



# **Uniwersytet Medyczny w Białymstoku**

DZIEDZINA NAUK MEDYCZNYCH I NAUK O ZDROWIU  
DYSCYPLINA NAUKI MEDYCZNE

## **ROZPRAWA DOKTORSKA**

Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów  
w raku żołądka

Autor: Elżbieta Pawluczuk

Promotor: prof. dr hab. n. med. Barbara Mroczko

Promotor pomocniczy: dr n. med. Agnieszka Kulczyńska-Przybik

Zakład: Zakład Diagnostyki Chorób Neurozwyrodnieniowych

Kierownik jednostki: prof. dr hab. n. med. Barbara Mroczko

Rozprawa doktorska została zrealizowana w ramach kształcenia w Szkole Doktorskiej UMB

Białystok, 2023



# **Medical University of Białystok**

FIELD OF SCIENCE: Medical and health sciences

SCIENTIFIC DISCIPLINE: Medical sciences

## **DOCTORAL THESIS**

The role of selected chemokines and their specific receptors  
in gastric cancer

Author: Elżbieta Pawluczuk

First supervisor: prof. dr hab. Barbara Mroczko

Assisting supervisor: dr n. med. Agnieszka Kulczyńska-Przybik

Department: Department of Neurodegeneration Diagnostics

Head of department: prof. dr hab. n. med. Barbara Mroczko

The doctoral thesis was carried out as a part of education at the Doctoral School of MUB

Białystok, 2023

## SPIS TREŚCI

|        |                                                                |    |
|--------|----------------------------------------------------------------|----|
| 1.     | Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską               | 5  |
| 1.1.   | Praca przeglądowa                                              | 5  |
| 1.2.   | Praca oryginalna                                               | 5  |
| 2.     | Wykaz skrótów                                                  | 6  |
| 3.     | Wstęp                                                          | 7  |
| 3.1.   | Chemokiny                                                      | 7  |
| 3.2.   | Biologiczne funkcje chemokin - fizjologiczne oraz patologiczne | 7  |
| 3.3.   | Receptory chemokinowe                                          | 8  |
| 3.4.   | Chemokina CXCL8 oraz jej receptory                             | 8  |
| 3.5.   | Znaczenie CXCL8 oraz jej receptorów w chorobach nowotworowych  | 9  |
| 4.     | Rak żołądka                                                    | 10 |
| 4.1.   | Epidemiologia raka żołądka                                     | 10 |
| 4.2.   | Czynniki ryzyka raka żołądka                                   | 10 |
| 4.2.1. | Podział czynników ryzyka w zależności od lokalizacji guza      | 11 |
| 4.2.2. | Czynniki genetyczne                                            | 11 |
| 4.3.   | Klasyfikacje raka żołądka                                      | 12 |
| 4.3.   | Diagnostyka obrazowa raka żołądka                              | 14 |
| 4.4.   | Markery nowotworowe raka żołądka                               | 14 |
| 5.     | Cel pracy                                                      | 16 |
| 6.     | Materiały i metody                                             | 19 |
| 6.1.   | Metody oznaczania                                              | 19 |
| 6.2.   | Materiał do badań                                              | 19 |
| 6.3.   | Grupy badana i kontrolna                                       | 19 |
| 7.     | Wyniki                                                         | 21 |
| 7.1.   | Stężenia markerów                                              | 21 |

|      |                                                                                                                                                 |    |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 7.2. | Korelacje między stężeniem CXCL8 i CXCR2 a stężeniami klasycznych markerów nowotworowych, tj. CEA i CA 19-9 oraz markerem stanu zapalnego – CRP | 21 |
| 7.3. | Ocena przydatności diagnostycznej CXCL8 i CXCR2 jako markerów raka żołądka                                                                      | 21 |
| 7.4. | Analiza regresji logistycznej                                                                                                                   | 22 |
| 8.   | Podsumowanie wyników                                                                                                                            | 23 |
| 9.   | Wnioski                                                                                                                                         | 24 |
| 10.  | Publikacje stanowiące rozprawę doktorską                                                                                                        | 25 |
| 10.  | Streszczenie                                                                                                                                    | 50 |
| 11.  | Summary                                                                                                                                         | 51 |
| 12.  | Piśmiennictwo                                                                                                                                   | 52 |
| 13.  | Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu                                 | 56 |
| 14.  | Zgoda Komisji Bioetycznej                                                                                                                       | 64 |



## **1. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską**

### **1.1. Praca przeglądowa**

**Pawluczuk E**, Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B: The Role of Chemokines in the Development of Gastric Cancer-Diagnostic and Therapeutic Implications. International Journal of Molecular Sciences. 2020.

**Punktacja IF: 5,924; MNiSW: 140**

### **1.2. Praca oryginalna**

**Pawluczuk E**, Łukaszewicz-Zajac M, Gryko M, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B: Serum CXCL8 and its specific receptor (CXCR2) in gastric cancer. Cancers. 2021.

**Punktacja IF: 6,575; MNiSW: 140**

| <b>Rodzaj publikacji*</b>                                                             | <b>Liczba*</b> | <b>Impact Factor*</b> | <b>Punktacja MNiSW*</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------------|-------------------------|
| <b>Publikacje<br/>włączone do<br/>rozprawy<br/>doktorskiej</b>                        | <b>2</b>       | <b>12,499</b>         | <b>280</b>              |
| <b>Publikacje, które<br/>nie zostały<br/>włączone do<br/>rozprawy<br/>doktorskiej</b> | <b>1</b>       | <b>2,276</b>          | <b>70</b>               |
| <b>Polskie<br/>streszczenia<br/>zjazdowe</b>                                          | <b>21</b>      | <b>-</b>              | <b>-</b>                |
| <b>Zagraniczne<br/>streszczenia<br/>zjazdowe</b>                                      | <b>0</b>       | <b>-</b>              | <b>-</b>                |
| <b>Razem</b>                                                                          | <b>24</b>      | <b>14,775</b>         | <b>350</b>              |

\*według danych Biblioteki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (stan na dzień: 26.04.2023)

## 2. Wykaz skrótów

|         |                                                                                                                                             |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AUC     | - pole powierzchni pod krzywą ROC ( <i>area under ROC curve</i> )                                                                           |
| APC     | - gen gruczolakowatej polipowatości okrężnicy ( <i>Adenomatous Polyposis Coli gene</i> )                                                    |
| BMI     | - wskaźnik masy ciała ( <i>body mass index</i> )                                                                                            |
| CA 19-9 | - antygen węglowodanowy 19-9 ( <i>carbohydrate antigen 19-9</i> )                                                                           |
| CA 72-4 | - antygen węglowodanowy 72-4 ( <i>carbohydrate antigen 72-4</i> )                                                                           |
| cDNA    | - komplementarny DNA ( <i>complementary DNA</i> )                                                                                           |
| CEA     | - antygen karcynoembrionalny ( <i>carcinoembryonal antigen</i> )                                                                            |
| CMIA    | - metoda immunochemiczna z użyciem mikrocząsteczek i znacznika chemiluminescencyjnego ( <i>Chemiluminescent Microparticle Immunoassay</i> ) |
| CRP     | - białko C-reaktywne ( <i>C-reactive protein</i> )                                                                                          |
| ELISA   | - metoda immunoenzymatyczna ( <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> )                                                                    |
| EUS     | - ultrasonografia endoskopowa ( <i>endoscopic ultrasound</i> )                                                                              |
| FAP     | - rodzinna polipowatość gruczolakowata jelita grubego ( <i>familial adenomatous polyposis</i> )                                             |
| G       | - stopień złośliwości histologicznej nowotworu ( <i>grade</i> )                                                                             |
| GERD    | - choroba refluksowa przełyku ( <i>gastroesophageal reflux disease</i> )                                                                    |
| HER2    | - ludzki naskórkowy czynnik wzrostu ( <i>human epidermal growth factor receptor 2</i> )                                                     |
| HDGC    | - zespół dziedzicznego rozlanego raka żołądka ( <i>hereditary diffuse gastric cancer</i> )                                                  |
| IL-8    | - interleukina 8 ( <i>interleukin 8</i> )                                                                                                   |
| LPS     | - endotoksyna bakterii Gram-ujemnych ( <i>lipopolysaccharides</i> )                                                                         |
| MALT    | - tkanka limfoidalna związana z błoną śluzową ( <i>mucosa-associated lymphoid tissue</i> )                                                  |
| mRNA    | - informacyjny kwas rybonukleinowy ( <i>messenger ribonucleic acid</i> )                                                                    |
| NAF     | - czynnik aktywujący neutrofile ( <i>neutrophil activating factor</i> )                                                                     |
| ROC     | - krzywa charakterystyki zależności odbiorca-nadawca ( <i>receiver-operating characteristics</i> )                                          |
| TAG-72  | - glikoproteina towarzysząca nowotworom 72 ( <i>tumor-associated glycoprotein 72</i> )                                                      |
| TNM     | - klasyfikacja stopnia zaawansowania nowotworu ( <i>tumor-lymph nodes-metastases</i> )                                                      |
| WHO     | - Światowa Organizacja Zdrowia ( <i>World Health Organization</i> )                                                                         |

### **3. Wstęp**

#### **3.1. Chemokiny**

Chemokiny to niewielkie białka o masie cząsteczkowej 8-14kDa, regulujące migrację komórek układu odpornościowego w procesach fizjologicznych i zapalnych [Zlotnik 2011]. Są produkowane przez leukocyty, komórki endotelium, fibroblasty oraz monocyty [Verbeke 2012, Lee 2014]. Białka te można podzielić według dwóch klasyfikacji. Pierwsza dzieli wyżej wymienione białka na 4 klasy: CC, XC, CXC oraz CX3, gdzie C reprezentuje pozycję głównej cysteiny, a X reprezentuje aminokwas. Druga klasyfikacja dzieli chemokiny ze względu na posiadaną funkcję tj. zapalną, homeostatyczną lub białka pełniące obie te funkcje [Lee 2014]. Chemokiny zapalne powodują chemotaksję neutrofili, limfocytów B oraz T do miejsca procesu zapalnego, a także rekrutację niedojrzałych komórek dendrytycznych do miejsca odpowiedzi immunologicznej. Chemokiny homeostatyczne kontrolują migrację limfocytów i komórek dendrytycznych w węzłach chłonnych [Balkwill 2012]. Wykazano, że chemokiny oddziałują poprzez przezbłonowe receptory sprzężone z białkiem G. Zidentyfikowano około 20 receptorów chemokin [Ransohoff 2009, Shrivastava 2014].

#### **3.2. Biologiczne funkcje chemokin - fizjologiczne oraz patologiczne**

Chemokiny biorą udział zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych. Wpływają na aktywację oraz przemieszczanie komórek układu odpornościowego. Chemokiny dzieli się na konstytutywne oraz indukowalne. Do chemokin konstytutywnych należą chemokiny homeostatyczne, które regulują przemieszczanie się komórek układu immunologicznego [Griffith 2014]. Wykazano, że chemokiny homeostatyczne biorą udział w organogenezie, a także promują angiogenezę oraz proliferację komórek [Zlotnik 2011]. Do chemokin indukowalnych należą chemokiny zapalne, które są wydzielane w miejscach stanu zapalnego [Griffith 2014]. Powodują one chemotaksję neutrofili, limfocytów B oraz T do miejsca procesu zapalnego, rekrutują również niedojrzałe komórki dendrytyczne do miejsca odpowiedzi immunologicznej. Chemokiny homeostatyczne kontrolują migrację limfocytów i komórek dendrytycznych w węzłach chłonnych [Balkwill 2012].

Chemokiny biorą udział również w patogenezie wielu procesów patologicznych, m. in. chorobach autoimmunologicznych, zapalnych, a także nowotworowych. CXCL8, CXCL5 oraz CXCL1, CCL2, CCL3, CCL5 stymulują proces włóknienia, proliferacji osteoblastów oraz różnicowania osteoklastów w reumatoidalnym zapaleniu stawów [Homey 2008]. Wykazano, że chemokiny uczestniczą w różnych procesach zapalnych obejmujących między innymi choroby kłębuszków i śródmiąższu nerek [Segeer 2004].

Liczba komórek z dodatnią ekspresją CCL2 i receptora CCR2 była podwyższona u pacjentów, którzy następnie rozwinęli schyłkową niewydolność nerek w porównaniu z pacjentami, u których nie wystąpiła schyłkowa niewydolność nerek [Yoshimoto 2004]. Białka te biorą również udział w chorobach ośrodkowego układu nerwowego. Wykazano nadekspresję receptorów chemokin CCR2, CCR3, CCR5 u chorych na stwardnienie rozsiane [McManus 1998, Simpson 2000]. Chemokiny oraz ich receptory odgrywają też ważną rolę w patogenezie wielu nowotworów, m.in. raka przełyku, raka jelita grubego, raka jajnika, raka piersi [Luker 2005]. Ponadto wysoką ekspresję CXCL8 wykazano w komórkach raka jelita grubego, która korelowała z bardziej zaawansowanym stadium guza, obecnością przerzutów odległych oraz szybszą progresją nowotworu [Rubie 2007].

### **3.3. Receptory chemokinowe**

Receptory chemokinowe powodują określoną odpowiedź komórkową po związaniu się z chemokiną. Nazwa receptora składa się z fragmentu mówiącego o nazwie grupy – CC, CXC, CX3C, następnie występuje litera R od słowa receptor oraz numer zgodny z kolejnością jego odkrycia. Receptory chemokin są sprzężone z białkiem G oraz należą do receptorów klasy A podobnych do rodopsyny. Są zbudowane z siedmiohelikalnej przezbłonowej struktury związanej z białkiem G. Po związaniu odpowiedniej chemokiny aktywowane jest białko G, następnie fosfolipaza, co powoduje rozpad fosfatydyloinozytolu na trójfosforan inozytolu i diacyloglicerol. Jeden receptor może wiązać się z kilkoma chemokinami, jednak są one zawsze z tej samej grupy. Natomiast jedna chemokina może wiązać się z kilkoma receptorami, co ma znaczenie w badaniach i próbach terapeutycznych [Henc 2013].

### **3.4. Chemokina CXCL8 oraz jej receptory**

Chemokina CXCL8 nazywana jest również interleukiną 8 (IL-8, interleukin 8) lub czynnikiem aktywującym neutrofile (NAF, neutrophil activating factor). Wykazano, że CXCL8 jest produkowana przez monocyty, pobudzane przez endotoksyny bakterii Gram-ujemnych (LPS, lipopolysaccharides), co stymuluje egzocytozę neutrofili [Moore 2019]. CXCL8 to 72-aminokwasowy peptyd, który może być wydzielany między innymi przez monocyty, makrofagi, fibroblasty, komórki endotelium i komórki epitelium. CXCL8 występuje w dwóch formach – jako monomer oraz jako dimer. Monomery łączą się jedynie z receptorem CXCR1, zaś dimery z receptorem CXCR1 oraz CXCR2. CXCR2 ma podobną budowę do CXCR1, ponieważ 76% sekwencji jest homologiczna, stąd też powinowactwo ww. receptorów do CXCL8 jest podobne. Ponadto CXCR2 oddziałuje z innymi

chemokinami CXCL1-3 oraz CXCL5-7, podczas gdy CXCL1 słabo się z nimi łączy [Ha 2017].

Chemokina CXCL8 oraz jej specyficzne receptory CXCR1 i CXCR2 tworzą oś CXCL8-CXCR1/CXCR2, która ma ważne znaczenie w procesach zapalnych. CXCL8 pobudza napływ neutrofilów, które biorą udział w procesie fagocytozy. Neutrofile poprzez fagocytozę umożliwiają wyeliminowanie patogenu oraz zahamowanie ostrego procesu zapalnego, zapobiega to rozwojowi przewlekłego procesu zapalnego [Ha 2017].

### **3.5. Znaczenie CXCL8 oraz jej receptorów w chorobach nowotworowych**

Sugeruje się rolę CXCL8 i jej specyficznego receptora CXCR2 w patogenezie wielu nowotworów takich jak rak płuca, rak jelita grubego, rak prostaty, rak trzustki, rak piersi, rak jajnika, a także rak żołądka [Liu 2016, Ha 2017].

Wykazano wzmożoną ekspresję CXCL8 w tkankach chorych na raka jelita grubego w porównaniu do pacjentów ze stanem zapalnym lub łagodnymi nowotworami, która korelowała z bardziej zaawansowanym stadium raka, obecnością przerzutów odległych, a także szybszą progresją nowotworu [Rubie 2007]. Stwierdzono, że stężenie CXCL8 w surowicy pacjentów z rakiem jelita grubego było wyższe w porównaniu do osób zdrowych z grupy kontrolnej [Pączek 2020].

Stężenia CXCL8 oraz CXCR2 były wyższe u chorych na raka trzustki niż u osób zdrowych. Wykazano znamienne statystycznie różnicę pomiędzy stężeniem CXCL8 u pacjentów z przerzutami do węzłów chłonnych a chorymi w stadium N0 raka trzustki.

Badania sugerują rolę CXCL8 w patogenezie ww. nowotworów oraz wskazują na potencjalne znaczenie tych białek jako kandydatów na markery nowotworowe [Litman-Zawadzka 2018, Pączek 2020].

## **4. Rak żołądka**

### **4.1. Epidemiologia raka żołądka**

Rak żołądka według najnowszych danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) z roku 2020 znajduje się na piątej pozycji co do częstości występowania oraz stanowi trzecią co do częstości przyczynę zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie [International Agency for Research on Cancer 2021].

Według rozkładu częstości zachorowalności na nowotwory złośliwe w Polsce w roku 2017, rak żołądka był na siódmym miejscu co do częstości u mężczyzn i poza pierwszą dziesiątką u kobiet wśród wszystkich zdiagnozowanych nowotworów złośliwych. Pod względem umieralności był na czwartym miejscu u mężczyzn oraz na siódmym u kobiet. Na świecie i w Polsce obserwowana jest zmniejszająca się zachorowalność i umieralność na nowotwory żołądka, jednak nadal współczynniki te w Polsce należą do najwyższych w Europie, a rak żołądka wciąż jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych [Cichon 2022].

### **4.2. Czynniki ryzyka raka żołądka**

Znanych jest wiele czynników ryzyka rozwoju raka żołądka. Według International Agency for Research on Cancer infekcja *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) zaliczana jest do pierwszej grupy karcynogenów i często wykrywana u pacjentów z chorobą wrzodową żołądka i dwunastnicy, dysplazją i hiperplazją żołądka [Morgan 2013].

Częstość występowania raka żołądka zwiększa się wraz z wiekiem pacjenta. Wykazano, że mężczyźni mają pięciokrotnie większe ryzyko wystąpienia raka okolicy wpustu oraz dwukrotnie wyższe ryzyko rozwoju raka pozostałych okolic anatomicznych żołądka niż kobiety, co sugeruje ochronną rolę estrogenów oraz szkodliwą rolę leków antyestrogenowych takich jak Tamoxifen. Narażenie na promieniowanie jonizujące u osób, które przetrwały bombardowanie na Hiroszimę oraz Nagasaki, a także osób z chłoniakiem Hodgkina, których jama brzuszna była napromieniowana dużą dawką, są również czynnikami ryzyka wystąpienia raka żołądka [Karimi 2014].

Innymi czynnikami powiązanymi z podwyższonym ryzykiem raka żołądka jest zwiększone spożycie soli. Zaobserwowano znaczny wzrost zachorowania na ww. nowotwór u osób spożywających więcej niż 10 g soli dziennie, a także nadużywających alkoholu. Palenie papierosów oraz stosowanie wyrobów tytoniowych również zwiększają ryzyko wystąpienia tego nowotworu [Morgan 2013].

Praca zawodowa w przemyśle gumowym, górnictwie i przemyśle metalowym, koksowniczym, przetwórstwie drewna, przy narażeniu na ciągły kontakt ze związkami

chemicznymi również zwiększa ryzyko raka żołądka. Otyłość oraz nadwaga ze wskaźnikiem masy ciała (BMI, body mass index) większym niż  $25 \text{ kg/m}^2$ , a także dieta uboga w owoce, warzywa i witaminę C to kolejne czynniki zwiększające prawdopodobieństwa rozwoju tego nowotworu [Rawla 2019].

Do pozostałych czynników ryzyka należy: posiadanie grupy krwi A, przynależność etniczna do grup takich jak Japończycy, Chińczycy, Koreańczycy, mieszkańcy Europy Południowej i Wschodniej oraz Ameryki Środkowej, a także choroba Addisona-Biermera, w której dochodzi do zaniku błony śluzowej żołądka oraz choroba Ménétiera, charakteryzująca się przerostem błony śluzowej żołądka. Czynnikiem ryzyka zachorowania na raka żołądka jest także wystąpienie tego nowotworu u członków rodziny [Krajowy Rejestr Nowotworów 2021].

#### **4.2.1. Podział czynników ryzyka w zależności od lokalizacji guza**

Istnieje podział czynników ryzyka raka żołądka ze względu na lokalizację anatomiczną guza. Z lokalizacją raka żołądka we wpusie przy bliskim sąsiedztwie anatomicznym przełyku wiążą się takie czynniki ryzyka jak wiek, płeć męska, dodatni wywiad rodzinny raka żołądka, palenie tytoniu, mała aktywność fizyczna, narażenie na promieniowanie jonizujące, otyłość oraz choroba refluksowa przełyku (GERD, gastroesophageal reflux disease). Natomiast wiek, płeć męska, dodatni wywiad rodzinny raka żołądka, palenie tytoniu, mała aktywność fizyczna, narażenie na promieniowanie jonizujące są czynnikami wystąpienia raka żołądka zlokalizowanego poza wpustem, w pozostałych lokalizacjach anatomicznych [Karimi 2014].

#### **4.2.2. Czynniki genetyczne**

Istnieją również genetyczne czynniki doprowadzające do zwiększonego ryzyka wystąpienia raka żołądka. Jest to między innymi zespół dziedzicznego rozlanego raka żołądka (HDGC, hereditary diffuse gastric cancer), spowodowany mutacją genu supresorowego E-kadheryny, w którym ryzyko raka żołądka określone jest na więcej niż 80% [Martel 2013].

Kolejny zespół powiązany z rozwojem raka żołądka to zespół Lyncha (dziedziczny rak jelita grubego niezwiązany z polipowatością). W typie I tego zespołu występuje rak jelita grubego, w typie II występują również takie nowotwory jak rak żołądka, jajnika, trzonu macicy, nerek, a także dróg żółciowych, skóry czy ośrodkowego układu nerwowego. Jest to zespół, w którym występuje mutacja genów odpowiedzialnych za naprawę uszkodzonego DNA.

Zespół rodzinnej polipowatości gruczołakowatej jelita grubego (FAP, familial adenomatous polyposis) z mutacją genu supresorowego gruczołakowatej polipowatości okrężnicy (APC, Adenomatous Polyposis Coli gene) zwiększa ryzyko wystąpienia polipów w żołądku, które w ostateczności mogą prowadzić do raka żołądka. Zespół Li-Fraumeni z mutacją genu TP53, a także zespół Peutza-Jaghersa z mutacją genu supresorowego LKB1 zwiększa ryzyko występowania wielu nowotworów, w tym raka żołądka. Polipowatość młodzieńcza dziedziczona autosomalnie dominująca może doprowadzać do polipów w przewodzie pokarmowym, a także raka żołądka [Martel 2013, Morgan 2013].

**Tabela 1. Stopnie zaawansowania klinicznego raka żołądka [Bosman 2010]**

| Stopień zaawansowania klinicznego nowotworu | Cecha T   | Cecha N   | Cecha M |
|---------------------------------------------|-----------|-----------|---------|
| 0                                           | Tis       | N0        | M0      |
| IA                                          | T1        | N0        | M0      |
| IB                                          | T2        | N0        | M0      |
|                                             | T1        | N1        | M0      |
| IIA                                         | T3        | N0        | M0      |
|                                             | T2        | N1        | M0      |
|                                             | T1        | N2        | M0      |
| IIB                                         | T4a       | N0        | M0      |
|                                             | T3        | N1        | M0      |
|                                             | T2        | N2        | M0      |
|                                             | T1        | N3        | M0      |
| IIIA                                        | T4a       | N1        | M0      |
|                                             | T3        | N2        | M0      |
|                                             | T2        | N3        | M0      |
| IIIB                                        | T4b       | N0, N1    | M0      |
|                                             | T4a       | N2        | M0      |
|                                             | T3        | N3        | M0      |
| IIIC                                        | T4a       | N2        | M0      |
|                                             | T4b       | N2, N3    | M0      |
| IV                                          | dowolne T | dowolne N | M1      |

#### 4.3. Klasyfikacje raka żołądka

Do precyzyjnego określenia stopnia zaawansowania nowotworu złośliwego służy jednolity system oceny zaawansowania choroby, na który składa się klasyfikacja stopnia zaawansowania nowotworu (TNM, tumor – nodes – metastases) oraz kliniczna ocena stopnia zaawansowania nowotworu. W klasyfikacji TNM są oceniane cechy takie jak wielkość guza pierwotnego (T, tumor), przerzuty w węzłach chłonnych (N, lymph nodes) oraz przerzuty w narządach odległych (M, metastases). Stopień zaawansowania klinicznego



raka żołądka jest określany na podstawie poszczególnych stadiów klasyfikacji TNM. Skale te mają wpływ na określenie rokowania pacjenta i wybór odpowiedniego leczenia pacjenta. Klasyfikacje TNM publikowana jest przez American Joint Committee on Cancer (AJCC) oraz Union for International Cancer Control (UICC) zostały przedstawione w tabeli 1 i 2 [Bosman 2010, Hu 2012].

**Tabela 2. Klasyfikacja TNM raka żołądka [Bosman 2010, Cichon 2022, Potemski 2015]**

| <b>Guz pierwotny - cecha T</b>            |                                                                                                                               |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tx</b>                                 | Nie można ocenić guza pierwotnego.                                                                                            |
| <b>T0</b>                                 | Nie stwierdza się guza pierwotnego.                                                                                           |
| <b>Tis</b>                                | Rak przedinwazyjny ( <i>carcinoma in situ</i> ): nowotwór śródnabłonkowy nienaciekający blaszki właściwej błony śluzowej.     |
| <b>T1</b>                                 | Guz nacieka blaszkę właściwą, blaszkę mięśniową błony śluzowej lub warstwę podśluzową.                                        |
| <b>T1a</b>                                | Guz nacieka blaszkę właściwą lub blaszkę mięśniową błony śluzowej.                                                            |
| <b>T1b</b>                                | Guz nacieka warstwę podśluzową.                                                                                               |
| <b>T2</b>                                 | Guz nacieka warstwę mięśniową właściwą.                                                                                       |
| <b>T3</b>                                 | Guz nacieka tkankę łączną znajdującą się pod warstwą surowiczą, ale nie nacieka otrzewnej trzewnej ani otaczających struktur. |
| <b>T4</b>                                 | Guz nacieka otrzewną trzewną lub sąsiadujące struktury.                                                                       |
| <b>T4a</b>                                | Guz nacieka otrzewną trzewną.                                                                                                 |
| <b>T4b</b>                                | Guz nacieka sąsiadujące struktury tkankowe.                                                                                   |
| <b>Regionalne węzły chłonne - cecha N</b> |                                                                                                                               |
| <b>Nx</b>                                 | Nie można ocenić regionalnych węzłów chłonnych.                                                                               |
| <b>N0</b>                                 | Nie stwierdza się przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych.                                                                |
| <b>N1</b>                                 | Obecne są przerzuty w 1-2 regionalnych węzłach chłonnych.                                                                     |
| <b>N2</b>                                 | Obecne są przerzuty w 3-6 regionalnych węzłach chłonnych.                                                                     |
| <b>N3</b>                                 | Obecne są przerzuty w $\geq 7$ regionalnych węzłach chłonnych.                                                                |
| <b>N3a</b>                                | Obecne są przerzuty w 7-15 regionalnych węzłach chłonnych.                                                                    |
| <b>N3b</b>                                | Obecne są przerzuty w $\geq 16$ regionalnych węzłach chłonnych.                                                               |
| <b>Przerzuty odległe - cecha M</b>        |                                                                                                                               |
| <b>M0</b>                                 | Nie stwierdza się przerzutów odległych.                                                                                       |
| <b>M1</b>                                 | Obecne są przerzuty odległe.                                                                                                  |

#### **4.3. Diagnostyka obrazowa raka żołądka**

Podstawową metodą stosowaną w diagnostyce chorych na raka żołądka jest gastroscopia, która umożliwia ocenę przełyku, wpustu oraz pozostałych odcinków żołądka, a także poziomej części dwunastnicy. Podczas jej wykonywania możliwe jest pobranie wycinków do badania histopatologicznego – minimum 6 wycinków, w tym przynajmniej jeden z dna owrzodzenia, a także diagnostyka w kierunku infekcji H. pylori. W Polsce nie prowadzi się badań przesiewowych w kierunku raka żołądka, a są one prowadzone w krajach o wysokim ryzyku zachorowania np. w Japonii [Cichon 2022].

Ultrasonografia jest metodą pomocniczą, która umożliwia uwidocznienie powiększonych węzłów chłonnych, przerzutów odległych, a także poszerzenia zewnątrzwątrobowych dróg żółciowych przez ucisk guza na głowę trzustki lub węzły chłonne [Cichon 2022].

Ultrasonografia endoskopowa (EUS, endoscopic ultrasound) umożliwia ocenę grubości nacieku oraz węzłów chłonnych w okolicy guza. Posiada porównywalną skuteczność do innych metod, z przewagą w diagnostyce wczesnych postaci nowotworu [Cichon 2022].

Tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny są stosowane w ocenie obecności przerzutów nowotworowych, naciekania naczyń krwionośnych przez komórki nowotworowe, a także miejscowego zaawansowania guza [Cichon 2022].

#### **4.4. Markery nowotworowe raka żołądka**

##### **CEA**

Antygen karcynoembrionalny (CEA, carcinoembryonal antigen) to białko błon komórkowych, które jest wydzielane w okresie płodowym przez przewód pokarmowy oraz trzustkę, a po urodzeniu w niewielkim stopniu przez komórki wątroby, trzustki oraz jelit. Prawidłowe stężenia u osób zdrowych wynosi do 5 ng/ml. Zwiększone stężenia tego markera występują u pacjentów z rakiem jelita grubego, odbytu, trzustki, żołądka, piersi, płuca, szyjki macicy, pęcherza moczowego, a także z neuroblastomą, mięsakami czy chłoniakami. Inne choroby z podwyższonym stężeniem CEA to wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zapalenie i marskości wątroby, czy przewlekłe zapalenie trzustki. Wykazano, że znacznie podwyższone stężenie tego białka może świadczyć o wznowie choroby nowotworowej lub przerzutach odległych. U chorych na raka żołądka przydatność diagnostyczna oznaczeń stężeń CEA jest ograniczona ze względu na brak 100% czułości i swoistości diagnostycznej,

ponieważ jego prawidłowe stężenie nie wyklucza istnienia nowotworu [Nocuń 2011, Soborczyk 2007].

#### **CA 72-4**

Antygen węglowodanowy 72-4 (CA 72-4, carbohydrate antigen 72-4) znany również jako glikoproteina towarzysząca nowotworom 72 (TAG-72, tumor-associated glycoprotein 72). Podwyższone stężenie tego markera występuje u chorych na raka jajnika, jelita grubego, żołądka, a także pacjentów z zapaleniem żołądka i chorobą wrzodową żołądka. CA 72-4 jest podstawowym markerem stosowanym w diagnostyce chorych na raka żołądka [Hu 2019].

#### **CA 19-9**

W warunkach fizjologicznych antygen węglowodanowy CA 19-9 (CA 19-9) jest syntetyzowany w niewielkich ilościach przez trzustkę, żołądek, drogi żółciowe, czy gruczoły ślinowe. Wykazano zwiększoną syntezę tego białka również w procesach patologicznych, m.in. ostrym i przewlekłym zapaleniu trzustki, marskości wątroby, zapaleniu pęcherzyka żółciowego czy niewydolności serca. Antygen ten jest najbardziej użytecznym markerem stosowanym w diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych na raka trzustki [Jo 2013, Manoj 2021, Scarà 2015].

#### **HER2**

Ludzki naskórkowy czynnik wzrostu (HER2, human epidermal growth factor receptor 2) to protoonkogen, który jest receptorem przez błonowy o aktywności kinazy tyrozynowej. Jest on zaangażowany w przekazywanie sygnałów indukujących wzrost i różnicowanie komórek. Ekspresja tego czynnika występuje od 10 do 30% pacjentów z gruczolakorakiem żołądka. Pacjenci z zaawansowanym rakiem żołądka oraz nadekspresją HER2 mogą otrzymać leczenie Transtuzumabem, który hamuje rozwój tego nowotworu [Gharib 2021].

## 5. Cel pracy

Chemokiny to substancje białkowe, które wpływają na migrację leukocytów poprzez receptory związane z białkami G. Cytokiny te są zaangażowane zarówno w procesy fizjologiczne, jak i patologiczne. Sugeruje się rolę ww. białek w patogenezie wielu nowotworów, w tym raka żołądka.

Rak żołądka jest piątym co do częstości występowania nowotworem złośliwym oraz trzecią co do częstości przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie. W Polsce nie stosuje się badań przesiewowych w celu wykrycia raka żołądka, stąd też choroba ta zazwyczaj jest wykrywana w stadium objawowym, przy użyciu badań endoskopowych. Dodatkowo w diagnostyce chorych na raka żołądka wykorzystuje się oznaczenia stężeń klasycznych markerów nowotworowych, tj. CEA i CA 19-9. Późna diagnostyka chorych na raka żołądka oraz krótki czas przeżycia pacjentów jest przyczyną poszukiwania nowych biomarkerów, które umożliwiłyby wcześniejsze wykrycie oraz włączenie odpowiedniego leczenia.

Sugeruje się znaczenie chemokiny CXCL8 i jej specyficznego receptora CXCR2 w rozwoju raka żołądka. Wykazano wzmożoną ekspresję CXCR2 w tkankach zaawansowanego raka żołądka, która korelowała z obecnością przerzutów odległych. Natomiast dotychczas nie porównano znaczenia CXCL8 i jej receptora CXCR2 w diagnostyce chorych na raka żołądka ze stężeniami klasycznych markerów nowotworowych, tj. CEA i CA 19-9, a także markerem stanu zapalnego – CRP. W związku z tym celem tej pracy było:

1. Oznaczenie stężeń chemokiny CXCL8 i jej receptora CXCR2 w surowicy chorych na raka żołądka oraz osób zdrowych z grupy kontrolnej, a następnie porównanie stężeń ww. białek pomiędzy tymi grupami.
2. Określenie zależności stężeń CXCL8 i jej receptora CXCR2 od stadium zaawansowania nowotworu oraz cech kliniczno-patologicznych raka żołądka.
3. Porównanie stężeń CXCL8 i CXCR2 ze stężeniami klasycznych markerów nowotworowych raka żołądka – CA 19-9 i CEA, a także stężeniami markera stanu zapalnego – CRP.
4. Przeprowadzenie analizy regresji logistycznej w celu ustalenia zależności między stężeniami markerów CXCL8, CXCR2, CA 19-9, CEA, CRP a prawdopodobieństwem wystąpienia raka żołądka.

5. Określenie wskaźników diagnostycznych CXCL8 i CXCR2, tj. czułości i swoistości diagnostycznej, wartości predykcyjnej wyniku dodatniego i wyniku ujemnego, mocy diagnostycznej w oparciu o pole powierzchni pod krzywą ROC.

**Szczegółowe informacje dotyczące celu pracy, materiałów i metod, wyników oraz wniosków zostały zaprezentowane w pracy oryginalnej wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej:**

**Pawluczuk E, Łukaszewicz-Zajac M, Gryko M, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B:**

Serum CXCL8 and its specific receptor (CXCR2) in gastric cancer. *Cancers*. 2021.

**Punktacja IF: 6,575; MNiSW: 140**

## **6. Materiały i metody**

### **6.1. Metody oznaczania**

Stężenia CXCL8 i CXCR2 oznaczono metodą immunoenzymatyczną (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay). Stężenie CXCL8 zmierzono przy pomocy zestawu Quantikine ELISA Human CXCL8/IL8 Immunoassay, a CXCR2 przy użyciu zestawu EIAab, Wuhan z Chin. Stężenia klasycznych markerów nowotworowych, tj. CEA i CA 19-9 zostały oznaczone metodą immunochemiczną z użyciem mikrocząsteczek i znacznika chemiluminescencyjnego (CMIA, Chemiluminescent Microparticle Immunoassay), zaś metoda turbidymetryczna została wykorzystana do oznaczenia stężeń CRP na analizatorze Architect 8200 ci firmy Abbott.

### **6.2. Materiał do badań**

Materiał do badań stanowiła krew żylna pobrana na czczo od pacjentów z rakiem żołądka przed rozpoczęciem leczenia oraz osób zdrowych z grupy kontrolnej. Następnie krew odwirowano celem uzyskania surowicy, którą przechowywano w temperaturze -80 °C.

### **6.3. Grupy badana i kontrolna**

W badaniu wzięło udział 98 pacjentów, tj. 64 chorych na raka żołądka operowanych w II Klinice Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku oraz 34 zdrowych ochotników bez aktywnego stanu zapalnego oraz nowotworu w wywiadzie. Badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (R-I-002/65/2017). Charakterystyka pacjentów została przedstawiona w tabeli 3.

**Tabela 3. Charakterystyka pacjentów z badania**

|                                                         |                 |       |
|---------------------------------------------------------|-----------------|-------|
| <b>Pacjenci z rakiem żołądka</b>                        |                 | 64    |
| Płeć                                                    | Kobiety         | 23    |
|                                                         | Mężczyźni       | 41    |
| Wiek                                                    | < 65 lat        | 34    |
|                                                         | ≥ 65 lat        | 29    |
|                                                         | Mediana         | 64    |
|                                                         | Przedział       | 28-82 |
| Stopień zaawansowania nowotworu,<br>wg klasyfikacji TNM | I               | 8     |
|                                                         | II              | 10    |
|                                                         | III             | 28    |
|                                                         | IV              | 16    |
| Cecha T<br>(wielkość guza)                              | T1+T2           | 10    |
|                                                         | T3              | 19    |
|                                                         | T4              | 35    |
| Cecha N<br>(obecność przerzutów w węzłach chłonnych)    | N0              | 16    |
|                                                         | N1+2            | 9     |
|                                                         | N3              | 38    |
|                                                         | niezdefiniowane | 1     |
| Cecha M<br>(obecność przerzutów odległych)              | M0              | 46    |
|                                                         | M1              | 16    |
|                                                         | niezdefiniowane | 2     |
| Typ klasyfikacji Laurena                                | 1               | 34    |
|                                                         | 2               | 24    |
|                                                         | niezdefiniowany | 6     |
| Stopień zróżnicowania                                   | G1+2            | 13    |
|                                                         | G3+4            | 39    |
| <b>Grupa kontrolna</b>                                  |                 | 34    |
| Płeć                                                    | Kobiety         | 10    |
|                                                         | Mężczyźni       | 24    |
| Wiek                                                    | < 65 lat        | 31    |
|                                                         | ≥ 65 lat        | 3     |
|                                                         | Mediana         | 51,5  |
|                                                         | Przedział       | 27-76 |



## **7. Wyniki**

### **7.1. Stężenia markerów**

Stężenie CXCL8 oraz CXCR2 było znamienne wyższe u pacjentów z rakiem żołądka w porównaniu do grupy kontrolnej osób zdrowych. Stwierdzono, że stężenia klasycznych markerów nowotworowych, tj. CA 19-9, CEA oraz markera stanu zapalnego – CRP były wyższe w grupie pacjentów z rakiem żołądka niż w grupie kontrolnej, przy czym różnicę istotną statystycznie wykazano dla stężeń CA 19-9 i CRP.

Stężenia CXCL8, CXCR2 oraz klasycznych markerów nowotworowych CEA i CA 19-9 oraz CRP były wyższe w stadium T4 niż T3 oraz T1+T2, przy czym znamienność statystyczną stwierdzono dla stężeń CRP i CA 19-9. Ponadto stężenia CXCL8, CRP, CEA i CA 19-9 były wyższe u chorych z przerzutami do węzłów chłonnych w stadium N3 w porównaniu do pacjentów w stadium NO i N1+2, zaś jedynie stężenia CA 19-9 wykazywały znamienność statystyczną. Analizując zależność stężeń badanych białek stwierdzono, że jedynie stężenia CRP były znacząco wyższe u pacjentów z przerzutami odległymi (stadium M1) niż u chorych w stadium M0.

### **7.2. Korelacje między stężeniem CXCL8 i CXCR2 a stężeniami klasycznych markerów nowotworowych, tj. CEA i CA 19-9 oraz markerem stanu zapalnego – CRP**

Korelacja rang Spearman'a została wykorzystana do przeprowadzenia analizy zależności między stężeniami badanych białek, tj. CXCL8 i CXCR2 oraz CRP, CA 19-9 i CEA a stopniem zaawansowania guza i cechami kliniczno-patologicznymi raka żołądka. Istotnie statystycznie dodatnie korelacje wykazano między stężeniem CXCL8 a stężeniami CXCR2, CA 19-9 i CRP, a także pomiędzy stężeniem CXCR2 i CRP.

### **7.3. Ocena przydatności diagnostycznej CXCL8 i CXCR2 jako markerów raka żołądka**

Przydatność diagnostyczna oznaczenia stężeń CXCL8 oraz CXCR2 jako markerów nowotworowych oceniono dzięki kryteriom diagnostycznym: czułości diagnostycznej, swoistości diagnostycznej, wartości predykcyjnej wyniku dodatniego i ujemnego oraz mocy diagnostycznej, oszacowanej za pomocą wielkości pola powierzchni pod krzywą ROC. Czułość diagnostyczna oznaczania stężenia CXCL8 (67%) była większa niż CXCR2 (63%) i CEA (20%) oraz porównywalna do stężeń CRP (67%) i CA 19-9 (70%). Najwyższą wartość tego parametru wykazano dla łączonego oznaczania stężeń CXCL8 i CA 19-9 (89%). Swoistość diagnostyczna CXCL8 (94%) była wyższa niż CXCR2 (85%) i CA 19-9 (59%), zaś niższa w porównaniu do CRP i CEA (100%). Wykazano, że wartość predykcyjną wyniku dodatniego dla oznaczenia stężenia CXCL8 oraz CXCR2 była wyższa niż CA 19-9,

a niższa w porównaniu do CEA i CRP. Wartość predykcyjna wyniku ujemnego oraz dokładność diagnostyczna oznaczeń stężeń CXCL8 była wyższa niż CXCR2, CA 19-9 i CEA i wzrastała przy łącznej analizie z CA 19-9 i CRP.

Na podstawie pola powierzchni pod krzywą ROC stwierdzono, że CXCL8 charakteryzowało się największą mocą diagnostyczną wśród wszystkich analizowanych białek.

#### **7.4. Analiza regresji logistycznej**

Analiza regresji logistycznej została wykorzystana do oceny korelacji między stężeniami CXCL8, CXCR2, CA 19-9, CEA, CRP a prawdopodobieństwem wystąpienia raka żołądka. W pierwszym etapie zastosowano analizę jednoczynnikową do identyfikacji, które białko kwalifikuje się do modelu wieloczynnikowego. Stwierdzono, że stężenia CXCL8, CXCR2 i CRP korelowały ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia raka żołądka i te zmienne włączono do analizy wieloczynnikowej. Wykazano, że stężenia CXCL8 i CRP są istotnymi czynnikami wystąpienia raka żołądka.

## **8. Podsumowanie wyników**

1. Stężenia CXCL8 i CXCR2 były znamienne wyższe u pacjentów z rakiem żołądka niż w grupie kontrolnej osób zdrowych, podobnie jak CA 19-9 i CRP.
2. Stężenia CXCL8 znamienne korelowały ze stężeniami receptora CXCR2, CA 19-9 i CRP, zaś stężenia CXCR2 ze stężeniami CRP.
3. Czułość diagnostyczna oznaczeń stężeń CXCL8 była większa niż CXCR2 i CEA oraz porównywalna do CRP i CA 19-9, przy czym łączna analiza CXCL8 i CXCR2 z klasycznym markerem nowotworowym CA 19-9 zwiększała czułość diagnostyczną.
4. Stężenia CXCL8 charakteryzowały się największą mocą diagnostyczną w rozpoznawaniu raka żołądka ocenioną na podstawie pola powierzchni pod krzywą ROC wśród wszystkich analizowanych białek.
5. Podwyższone stężenie CXCL8 jest istotnym, niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia raka żołądka.

## **9. Wnioski**

1. Znamienne wyższe stężenia CXCL8 i CXCR2 w surowicy krwi chorych na raka żołądka w porównaniu do osób zdrowych sugerują udział chemokiny CXCL8 i jej specyficznego receptora w rozwoju ww. nowotworu.
2. Istotna statystycznie korelacja między stężeniami CXCL8, CXCR2 a stężeniami białka ostrej fazy – CRP sugeruje udział procesu zapalnego w patogenezie raka żołądka.
3. Wyższa moc diagnostyczna oznaczeń stężeń CXCL8 w porównaniu do klasycznych markerów nowotworowych wskazuje na znaczenie tej chemokiny jako potencjalnego kandydata na marker nowotworowy raka żołądka, szczególnie przy łącznej analizie z CA 19-9.
4. Wykazano, że podwyższone stężenie CXCL8 jest istotnym statystycznie czynnikiem ryzyka występowania raka żołądka, co wskazuje na przydatność oznaczania stężeń tej chemokiny w diagnostyce raka żołądka.

## **10. Publikacje stanowiące rozprawę doktorską**

### **Praca przeglądowa**

**Pawluczuk E**, Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B: The Role of Chemokines in the Development of Gastric Cancer-Diagnostic and Therapeutic Implications. International Journal of Molecular Sciences. 2020.

**Punktacja IF: 5,924; MNiSW: 140**

### **Praca oryginalna**

**Pawluczuk E**, Łukaszewicz-Zajac M, Gryko M, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B: Serum CXCL8 and its specific receptor (CXCR2) in gastric cancer. Cancers. 2021.

**Punktacja IF: 6,575; MNiSW: 140**



Review

# The Role of Chemokines in the Development of Gastric Cancer—Diagnostic and Therapeutic Implications

Elzbieta Pawluczuk <sup>1</sup>, Marta Łukaszewicz-Zajac <sup>2</sup>  and Barbara Mroczko <sup>1,2,\*</sup> 

<sup>1</sup> Department of Neurodegeneration Diagnostics, Medical University of Białystok, 15-269 Białystok, Poland; elzbieta.pawluczuk16@wp.pl

<sup>2</sup> Department of Biochemical Diagnostics, Medical University of Białystok, 15-269 Białystok, Poland; marta.lukaszewicz-zajac@umb.edu.pl

\* Correspondence: mroczko@umb.edu.pl; Tel.: +48-85-8318785; Fax: +48-85-8318585

Received: 15 October 2020; Accepted: 9 November 2020; Published: 10 November 2020



**Abstract:** Gastric cancer (GC) is the fifth most common cancer worldwide and the second leading cause of cancer-related death. GC is usually diagnosed at an advanced stage due to late presentation of symptoms. Therefore, there is a need for establishing more sensitive and specific markers useful in early detection of the disease when a cancer is asymptomatic to improve the diagnostic and clinical decision-making process. Some researchers suggest that chemokines and their specific receptors play an important role in GC initiation and progression via promotion of angiogenesis, tumor transformation, invasion, survival and metastasis as well as protection from host response and inter-cell communication. Chemokines are small proteins produced by various cells such as endothelial cells, fibroblasts, leukocytes, and epithelial and tumor cells. According to our knowledge, the significance of chemokines and their specific receptors in diagnosing GC and evaluating its progression has not been fully elucidated. The present article offers a review of current knowledge on general characteristics of chemokines, specific receptors and their role in GC pathogenesis as well as their potential usefulness as novel biomarkers for GC.

**Keywords:** chemokines; tumor markers; gastric cancer; chemokine receptor

## 1. Gastric Cancer

According to the World Health Organization (WHO) data published in 2018, gastric cancer (GC) is the fifth most common cancer worldwide and the second leading cause of death among cancers [1]. The most common type of GC is adenocarcinoma—a malignant epithelial tumor with glandular origin. Anatomically, it is classified as cardia and non-cardia adenocarcinoma. Gastric cardia adenocarcinoma shares common characteristics and risk factors with esophageal adenocarcinoma because of the anatomical proximity to the esophagus, while non-cardia cancers are located distally, and their risk factors are more typical of GC [2]. The Lauren classification divides gastric adenocarcinoma into two main histological types: diffuse and intestinal type [3].

Prognosis of GC is poor, as the five year survival rate is lower than 30% [3]. According to a Japanese analysis, incidence of GC is steadily decreasing, with a decline observed particularly among young individuals with the non-cardia type of cancer. On the other hand, an American study reports an increasing incidence of corpus (non-cardia) GC [4]. Numerous risk factors for stomach cancer have been identified [2], including environmental and genetic causes [4]. The main risk factor is *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection, which can lead to acute gastritis. *H. pylori* is thought to be responsible for 80% of gastric ulcers. Alcohol consumption and smoking also increase stomach cancer risk. Other factors implicated in GC development are chemical exposure, high temperatures, or working in wood, metal, and rubber processing plants. Additionally, a diet high in salt can break

the gastric mucosal barrier and lead to the inflammatory process. Further factors implicated in GC development are obesity—an analysis revealed an increased risk for individuals with a body mass index (BMI) higher than 25 kg/m<sup>2</sup>—and a diet lacking in fruit and vegetables [5]. Gastric surgery is also a predisposing factor. Additionally, exposure to radiation, particularly in the abdominal area, can make individuals more susceptible to GC. Some studies suggest that Epstein–Barr virus may play a role in the development of stomach cancer. Furthermore, individuals with type A blood have a higher risk of developing GC, while those with type O blood have a higher risk of developing gastric ulcers. GC is more common in males than in females, which may be associated with the protective influence of hormones such as estrogen or gender differences in dietary habits [2].

Measurement of serum concentrations of biochemical markers such as cancer antigen 72-4 (CA 72-4) and carcinoembryonic antigen (CEA) is a very important diagnostic tool in routine clinical practice. Cancer antigen 72-4 (CA 72-4) is a first-line classical tumor marker with the highest diagnostic sensitivity for GC. Its concentration may also be elevated in patients with colon, pancreatic, breast, or ovarian cancer [6]. A study performed by Joypaul et al. demonstrated that CA 72-4 is a reliable marker in GC and that serial sampling may help to identify recurrence early [7]. The role of CA 72-4 as a screening marker in healthy individuals is not clear. A study by Hu et al. evaluating the utility of CA 72-4 as a screening tool for GC in a healthy population showed that the marker may not be effective in asymptomatic individuals due to low positive predictive values [6]. Another classical tumor marker for GC is CEA, whose levels may be elevated in diseases such as GC, colorectal cancer, pancreatic cancer, lung cancer, or as a result of inflammation. Measurement of serum concentrations of carbohydrate antigen (CA 19-9) is also routinely used in GC diagnosis, although its concentrations may also be elevated in the blood of patients with pancreatic cancer, cholangiocarcinoma, colon cancer, esophageal cancer, hepatocarcinoma, as well as pancreatitis, biliary tract diseases, or liver cirrhosis [8]. In addition, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) is used to classify patients with advanced GC for treatment with trastuzumab. The markers, which are presented above, lack sufficient specificity and are not useful as screening tools aimed at detecting GC at an early stage. Measurement of the levels of these proteins can be used to monitor tumor progression as well as assist in selecting the most appropriate treatment method [9]. Therefore, there is a need for more specific markers in GC diagnosis. Some authors indicate that chemokines may be a group of such biochemical markers, and therefore more intensive research on these molecules is required [8].

### 1.1. Chemokines

Chemokines are proteins secreted in pathological circumstances by various cells such as endothelial cells, fibroblasts, epithelial cells, leukocytes, and tumor cells [10]. They are grouped according to two classifications. In the first classification, there are four classes of chemokines: CC (C-C motif chemokines), XC (X-C motif chemokines), CXC (C-X-C motif chemokines), and CX3C (C-X<sub>3</sub>-C motif chemokines), where C reflects the position of key cysteine and X represents any amino acid. The most important factor in the second classification is function of the chemokine— inflammatory, homeostatic, or dual-function chemokines are distinguished [11,12].

Chemokines act via their specific receptors. There are over twenty chemokine receptors which are seven-transmembrane, G protein-coupled receptors [13]. One chemokine can be related to many receptors, whereas a specific receptor may be activated by several ligands [14]. Chemokine receptors participate both in physiological processes and in cancers, cardiovascular diseases, or infections [13].

Chemokines are primarily involved in inflammation. Controlled inflammation is an important and beneficial process since it can, for example, promote wound healing or defend the body against pathogens. Moreover, chemokines are also crucial to processes such as atherosclerosis, autoimmune diseases, or HIV infection [14]. They play an important role in autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis. These proteins participate in cell recruitment, for example, recruitment of Th1 lymphocytes (T helper cells 1) to the synovium. Blocking receptors involved in this process reduces inflammation. Chemokines secreted in patients with rheumatoid arthritis differ between phases of

arthritis. CCL4 (CC chemokine ligand 4), CXCL4 (CXC chemokine ligand 4), CXCL7 (CXC chemokine ligand 7), and CXCL13 (CXC chemokine ligand 13) are expressed in the early stage, while CCL3 (CC chemokine ligand 3) and CCL9 (CC chemokine ligand 9) are expressed in more advanced stages of the disease [15]. On the other hand, uncontrolled inflammation leads to pathological processes and may promote tumor development. Chemokines are associated with cell migration during inflammation and if this process is prolonged, it may lead to carcinogenesis [11].

## 1.2. Chemokines in Cancer

GC is a solid tumor which consists of stromal cells, e.g., endothelial cells or fibroblasts, and is infiltrated by lymphocytes, neutrophils, and macrophages. All of these cells participate in chemokine production [16]. Recent studies have demonstrated that chemokines and their receptors may be involved in tumor initiation and progression. Chemokines coordinate multiple intercellular processes and play a role in tumor progression [14].

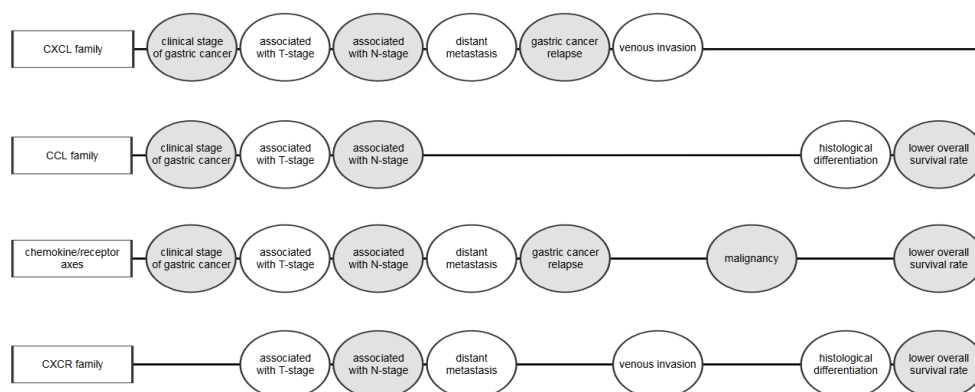
Chemokines act indirectly by participating in angiogenesis or directly by affecting tumor transformation, growth, invasion, survival, and metastasis [11]. They are involved in migration, intercellular communication, proliferation, protection from the host response, angiogenesis, and extravasation [13]. Chemokines originate from the tumor microenvironment (TME). Tumor growth is not an independent factor, and this theory has been proposed by a number of researchers [17,18]. Chemokines originating from the TME can facilitate tumor progression or remodeling of TME and signal transduction [19]. Some studies have demonstrated that tumor cells can produce chemokines or express their receptors. Identifying chemokines involved in the progression of various cancers may also be important in future pharmacotherapy of patients. Gao et al. studied CXCL11 expression in colorectal cancer tissue, and they observed that CXCL11 suppression inhibited invasion and cell migration in vitro, while in vivo down-regulation of this chemokine reduced cell growth and metastasis [20]. These proteins may play a crucial role in the pathogenesis of many cancers such as melanoma, breast cancer, ovarian cancer, colorectal cancer, esophageal cancer, as well as gastric cancer [21–23].

## 2. Chemokines in Gastric Cancer

### 2.1. CXC Chemokines

Some clinical investigations have indicated that selected chemokines, particularly the CXC family of chemokines, and their specific receptors play an important role in GC pathogenesis (Figure 1). Chen et al. assessed the concentrations of CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL8, CXCL11, and CXCL13 in tumor drainage blood and peripheral blood from relapse-free GC patients and found that post-treatment levels were lower in comparison to pre-treatment concentrations [16]. Reduced CXCR1 (CXC chemokine receptor 1) and CXCR3 (CXC chemokine receptor 3) expression was associated with a smaller tumor size and lower tumor stage (TNM) stage, while decreased CXCR2 (CXC chemokine receptor 2) and CXCR4 (CXC chemokine receptor 4) expression correlated with a larger tumor and higher TNM stage. Patients with recurrent GC had higher concentrations of CXCL1, CXCL2, CXCL4, CXCL5, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12, CXCL13, and CXCL14 in tumor drainage blood and peripheral blood compared to relapse-free patients. The authors suggest that selected CXC chemokines may be used as markers of GC development and progression [16] (Table 1).





**Figure 1.** Correlations between the role of chemokines and features assessed in gastric cancer (GC) [10,16,19,24–43]. Rectangles represent chemokine ligand (CXCL and CCL) families, chemokine/receptor pairs, and chemokine receptors (CXCR) families analyzed in the study. Ellipses represent selected features in gastric cancer correlated with concentration or expression of chemokine families, chemokine/receptor pairs, and chemokine receptors. T-stage—depth of tumor invasion. N-stage—presence of lymph node metastasis.

**Table 1.** The role of CXCL (CXC chemokine ligand) in gastric cancer (GC).

| Chemokines | Source                                                     | Results                                                                                                                                 | References |
|------------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| CXCL1      | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                                                               | [16]       |
|            | Expression                                                 | Associated with higher T-stage, venous and lymphatic invasion, age, and metastasis of lymph nodes                                       | [26]       |
| CXCL2      | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                                                               | [16]       |
|            | Expression                                                 | Associated with lower T-stage                                                                                                           | [26]       |
| CXCL4      | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                                                               | [16]       |
| CXCL5      | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                                                               | [16]       |
|            | Serum concentration                                        | Elevated in advanced GC, correlated with presence of distant metastasis and T-stage                                                     | [24]       |
|            |                                                            | Higher in IIIB and IV stages of GC than in benign conditions                                                                            | [25]       |
|            | Expression                                                 | Correlated with N-stage, higher in N2 and N3                                                                                            | [25]       |
| CXCL7      | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Higher concentration in GC relapse                                                                                                      | [16]       |
|            | Expression                                                 | Associated with older age, presence of metastasis, and invasion of the lymph nodes, venous invasion and negative cytology of peritoneum | [26]       |

Table 1. Cont.

| Chemokines | Source                                                     | Results                                                                                     | References |
|------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| CXCL8      | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                   | [16]       |
|            |                                                            | Elevated in advanced stage of GC                                                            | [10]       |
|            |                                                            | Higher in patients with <i>H. pylori</i> and GC                                             | [27]       |
|            | Serum concentration                                        | Higher in GC than peptic ulcer disease and control group                                    | [28]       |
|            |                                                            | Higher concentration correlated with <i>H. pylori</i> infection                             | [28,29]    |
| CXCL9      | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                   | [16]       |
| CXCL10     | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                   | [16]       |
| CXCL11     | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment                                                         | [16]       |
| CXCL12     | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Higher concentration in GC relapse                                                          | [16]       |
|            | Serum concentration                                        | Elevated in advanced GC, correlated to presence of distant metastasis and nodal involvement | [24]       |
| CXCL13     | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Lower concentration after treatment<br>Higher concentration in GC relapse                   | [16]       |
| CXCL14     | Concentration in tumor drainage blood and peripheral blood | Higher concentration in GC relapse                                                          | [16]       |

*H. pylori*—*Helicobacter pylori*. T-stage—depth of tumor invasion. N-stage—presence of lymph node metastasis.

In a study performed by Lim et al., serum CXCL12 and CXCL5 concentrations in four groups of patients—normal-risk, high-risk of GC (intestinal metaplasia or adenoma), early GC and advanced GC—were analyzed. Both CXCL12 and CXCL5 concentrations were elevated in the group with advanced GC and correlated with the presence of distant metastasis. Serum CXCL12 levels were associated with nodal involvement while CXCL5 concentrations were associated with depth of tumor invasion and distant metastasis. Furthermore, the receiver operating characteristic (ROC) curve showed that serum CXCL5 and CXCL12 levels had higher diagnostic significance in predicting GC compared to CEA. The researchers suggested that the combined measurement of CXCL5, CXCL12, and CEA concentrations may be used to predict GC and distant metastasis [24]. Moreover, a study by Park et al. revealed that enhanced CXCL5 expression was correlated with nodal involvement (N-stage), while there was no relationship between CXCL5 immunoreactivity and tumor size or direct extent of the primary tumor. In addition, serum CXCL5 concentrations were higher in patients with advanced GC in comparison to those with benign tumors, which may suggest a potential role of CXCL5 in GC progression [25].

In addition, Yamamoto et al. reported that CXCL1 expression was statistically associated with age, higher T-stage, venous and lymphatic invasion, and metastasis to the lymph nodes, whereas CXCL2 levels were correlated with lower T-stage and no nodal involvement. Moreover, CXCL3 expression

was associated with lower infiltration of tumor cells while CXCL7 expression was associated with a more advanced age, presence of lymph node metastasis, and venous invasion. There were no statistically significant differences between CXCL5, CXCL6, and CXCL8 levels and clinicopathological characteristics of GC [26].

CXCL8, also known as IL-8, is a chemokine which promotes inflammation and stimulates vascular growth factor expression (VEGF) and cell proliferation. CXCL8 can be produced by macrophages, monocytes, and endothelial and epithelial cells. In *H. pylori* infection, CXCL8 is produced by gastric epithelial cells. The expression of this chemokine can be measured in gastric antral biopsy specimens from patients with *H. pylori* infection or gastritis. CXCL8 attracts neutrophils to the site of inflammation. However, these neutrophils are unable to eliminate *H. pylori* infection, which leads to a chronic neutrophil inflammation process and gastritis. *H. pylori* and chronic inflammation are factors contributing to GC development [27]. A study by Baj-Krzyworzeka et al. revealed elevated CXCL8 concentrations in GC patients. Thus, this chemokine facilitates tumor growth by neutrophil chemotaxis and promotes formation of metastases via the production of metalloproteases and vascular endothelial growth factor [10]. Haghazali et al. demonstrated that CXCL8 concentration was higher in a group of patients with GC in comparison to the control group and individuals with peptic ulcer disease. Moreover, elevated CXCL8 concentration correlated with *H. pylori* infection [28]. Lee et al. discovered that serum CXCL8 concentration was higher in patients with *H. pylori* infection and GC in comparison to patients with *H. pylori* infection but without GC [29].

## 2.2. CCL Chemokines

It has been indicated that the CCL family of chemokines may play an important role in GC pathogenesis (Table 2). In a study by Baj-Krzyworzeka et al., plasma concentrations of CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL8, CXCL9, and CXCL10 in GC were assessed. There were significant differences between plasma CCL2, CCL4, and CCL5 levels in GC patients and healthy controls. CCL2 and CCL10 concentrations correlated with clinical stage of the disease and were highest in patients with more advanced cancer. However, no associations were found between concentrations of these chemokines and histopathological characteristics of GC [10]. The authors concluded that increased levels of these chemokines promote migration and invasiveness of GC cells [10].

**Table 2.** The role of CCL chemokines in gastric cancer (GC)

| Chemokines/<br>Receptors of<br>Chemokines | Source               | Results                                                                                                                                                                                                                              | References |
|-------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| CCL2                                      | Expression           | Elevated in 66% of GC specimen, correlated with lower overall survival rate                                                                                                                                                          | [33]       |
|                                           | Plasma concentration | Correlated with clinical stage of GC                                                                                                                                                                                                 | [10]       |
| CCL5                                      | Serum concentration  | Higher in GC than control group, overall survival reduced when elevated, elevated concentration correlated with more advanced stage of the tumor, higher depth invasion, low histological differentiation and lymph node involvement | [30]       |
|                                           |                      | Increased concentration correlated with higher T-stage, N-stage, peritoneal metastasis and decreased survival                                                                                                                        | [31]       |
| CCL10                                     | Plasma concentration | Correlated with clinical stage of GC                                                                                                                                                                                                 | [10]       |

T-stage—depth of tumor invasion. N-stage—presence of lymph node metastasis.

Some clinical investigations have revealed that patients with GC have a higher serum concentration of CCL5 in comparison to healthy controls, which has been confirmed by other authors [30–32]. The overall survival rates of GC patients with elevated serum CCL5 levels were reduced in comparison to subjects with low concentrations of this chemokine. Elevated CCL5 concentrations correlated with poorer histological differentiation, greater depth of tumor invasion, more frequent lymph node involvement, and advanced tumor stage [30]. In a study by Wang et al., increased serum concentration of CCL5 correlated with a higher T- and N- stage, peritoneal metastasis and decreased survival. The authors concluded that CCL5 may participate in the promotion, invasion, and peritoneal metastasis of GC and suggested that this chemokine may be a therapeutic target in the future [31]. The findings were confirmed by Ding et al., who also reported that CCL5 may be a new target in the treatment of GC patients [32].

In a study by Tao et al., CCL2 expression was elevated in GC specimens. The overall survival rate of GC patients with elevated CCL2 expression was reduced in comparison to individuals with lower CCL2 expression. According to the authors of the study, CCL2 may be used as an independent prognostic marker for GC [33].

### 2.3. Chemokine/Receptor Axis

An increasing body of evidence suggests that chemokine/specific receptor pathways are involved in the pathogenesis of many malignancies, including GC (Table 3). There are studies demonstrating that CCL20 affects the progression of colorectal cancer, liver cancer, pancreatic cancer, breast cancer, and GC [19,34–36]. CCL20, in contrast to other chemokines, binds only CCR6. Chen et al. reported that CCR6 expression in cancer is elevated and connected with malignant progression. The upregulation of CCR6 has been observed in patients with GC in comparison to normal gastric tissue. CCL20 recruits other cells to the TME, which can make the process of signaling more complicated [19]. Jin et al. reported that CXCR6 expression was upregulated in GC tumor tissue and was significantly correlated with lymph node and distant metastases as well as an advanced clinical stage of GC. A larger tumor enhanced CEA concentration and a higher TNM stage enhanced CXCR6 expression were correlated with worse overall survival rates. The authors also performed a three year follow-up of patients with GC which revealed that patients with lower CXCR6 levels had longer overall survival than those with the elevated level of this cytokine [37].

**Table 3.** The role of chemokine/receptor axis in gastric cancer (GC).

| Chemokines/<br>Receptors of<br>Chemokines | Source     | Results                                                                                                                                                 | References |
|-------------------------------------------|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| CCL20/CCR6                                | Expression | Elevated in GC and related to malignancy                                                                                                                | [19]       |
|                                           |            | Upregulated in GC tumor tissues, correlated with lymph node and distant metastases, advanced clinical stage of GC, larger tumor, worse overall survival | [37]       |
| CXCL12/CCR4                               | Expression | Higher in GC tissues                                                                                                                                    | [38]       |
|                                           |            | Correlated with more advanced tumor stage, upregulated after neoadjuvant chemotherapy                                                                   | [39]       |
| CCL17/CCR4                                | Expression | Elevated in GC tumor cells, indicates worse prognosis, associated with relapse of GC and decreased overall survival                                     | [40]       |

Growing evidence shows the role of the CXCL12 and the CXCR4 pathways in GC pathogenesis. Xu et al. revealed that expression of CXCL12 and CXCR4 was significantly different between GC

tissue and normal gastric tissue. However, no statistically significant differences in CXCL12 and CXCR4 expression were detected between stages of GC [38]. Rubie et al. demonstrated statistically significant downregulation of CCL12 and upregulation of CXCR4 mRNA in GC tissue compared to normal gastric tissue. Furthermore, it was observed that CXCL12 mRNA was related to a more advanced tumor stage. In patients who received neoadjuvant chemotherapy, CXCR4 expression was upregulated, while downregulation in CXCL12 expression was observed in subjects with lymph node and vein involvement [39]. In addition, Lee et al. assessed the role of the CCR4/CCL17 axis in GC development. The authors used clinical samples of GC and GC standard cell lines and established that 75% of GC cell lines and 17% of clinical samples expressed CCR4. Patients with CCR4 positive tumors were found to have a worse prognosis in comparison to those with CCR4 negative tumors. The authors concluded that the CCR4/CCL17 axis is associated with recurrence of GC and decreased overall survival of patients with this malignancy [40].

#### 2.4. Chemokine Receptors

It has been proven that chemokine receptors may also play an important role in GC pathogenesis, and therefore this issue is frequently examined in clinical studies (Table 4). In a study by Chen et al., the expression of chemokine receptor 3 (CXCR3) was significantly enhanced in GC tissue in comparison to paracancerous tissue and was related to higher differentiation and smaller depth of invasion of GC. The authors suggested that elevated CXCR3 expression could be used as a prognostic marker for GC [41].

**Table 4.** The role of chemokine receptors in gastric cancer (GC).

| Chemokines/<br>Receptors of<br>Chemokines | Source     | Results                                                                                                                                                                                 | References |
|-------------------------------------------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| CXCR1                                     | Expression | Associated with presence of distant metastasis, tumor differentiation and advanced stage of GC                                                                                          | [42]       |
|                                           |            | Reduced expression associated with smaller tumor and lower TNM stage                                                                                                                    | [16]       |
| CXCR2                                     | Expression | Associated with presence of distant metastasis, tumor differentiation and advanced stage of GC                                                                                          | [42]       |
|                                           |            | Reduced expression correlated with large tumor and higher TNM stage                                                                                                                     | [16]       |
| CXCR3                                     | Expression | Higher in GC tissue than paracancerous tissue, related to higher differentiation, smaller depth invasion, longer overall survival and lower mortality rate                              | [41]       |
|                                           |            | Reduced expression associated with smaller tumor and lower TNM stage                                                                                                                    | [16]       |
| CXCR4                                     | Expression | Reduced expression correlated with larger tumor and higher TNM stage                                                                                                                    | [16]       |
| CXCR7                                     | Expression | Higher in GC, overall survival was lower, connected with lymph node metastasis, venous invasion, advanced TNM stage, deeper invasion of the tumor and poor histological differentiation | [43]       |

GC—gastric cancer. TNM—tumor stage (Tumor, Lymph nodes, Metastasis) classification of malignant tumors.

Li et al. established that overexpression of CXCR1 and CXCR2 was associated with the presence of distant metastases, tumor differentiation and advanced stage of [42]. These results suggest that CXCR1 and CXCR2 play a crucial role in GC progression [42]. Moreover, in a study by Yamamoto et al., the expression of CXCR2 ligands such as CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL7 and CXCL8 in GC tissue was determined [26]. CXCL1 expression was correlated with greater depth of invasion, whereas lymph node metastasis was correlated with increased CXCL1 and CXCL7 expression [26]. Prognosis of CXCL1-positive patients was significantly poorer in comparison to that of CXCL1-negative patients. The authors concluded that among CXCR2 ligands, CXCL7 and CXCL1 may play an important role in GC progression via CXCR2 signaling [26].

In a study by Nambara et al., expression of CXCR7 in GC was higher than in normal gastric tissue [43]. The overall survival was decreased in patients with elevated CXCR7 mRNA expression. Enhanced CXCR7 expression was also associated with lymph node metastasis, venous invasion, advanced TNM stage, deeper tumor invasion, and poor differentiation of GC. There were no statistically significant differences between CXCR7 expression and patients' gender, age, and lymphatic invasion. Moreover, higher CXCR7 expression was correlated with angiogenesis as well as with migration and proliferation of GC cells [43].

Some clinical investigations have indicated the significance of the aberrant expression of chemokine receptors in GC, including copy number changes or upregulation of chemokine receptors mRNA. In recent years, several cancer parameters, such as immune infiltration, somatic copy number alterations (SCNA), tumor mutation burden (TMB), tumor purity, cytolytic activity (CYT), and drug sensitivity have been reported to be prognostic factors and potential therapeutic markers for various cancers, including GC [44,45]. There was a statistically significant correlation between CXCR4 levels and TMB, CYT, tumor purity, tumor immune infiltration, and drug sensitivity. Moreover, elevated CXCR4 expression can affect the resistance of cancer cells to drugs [44]. What is more, a possible link between tumor immunity and aberrant expression of CCR4 in GC cells has been proved [46]. The study of Yang et al. has revealed that the aberrant expression of CCR4 in GC could contribute to tumor-induced immunosuppression [46]. It has been proved that TNF alpha (tumor necrosis factor alpha) and transcription factor NF- $\kappa$ B are the key factors that connect inflammation to tumor promotion [46–48]. A significant positive relationship between expression of CCR4 and TNF alpha in GC tissue has been found. Thus, there is a possibility that TNF-alpha might upmodulate expression of CCR4 in an NF- $\kappa$ B-dependent manner. Authors conclude that CCR4 might play a novel function in immunosuppression by regulating secretion of cytokine and cytotoxicity of immune cells. Moreover, TNF alpha promotes tumor-induced immunosuppression via induction of aberrant CCR4 expression and may represent a new target for immune treatment of GC in the future [46]. The study of Cheng et al [49] revealed that CXCL12/CXCR4 induces GC cell epithelial–mesenchymal transition (EMT), what is associated with activation of *MET* proto-oncogene (*c-MET*). CXCR4 expression is positively correlated with *c-MET* phosphorylation, and the presence of both correlates with poor GC prognosis. Authors indicate the importance of CXCR4 and *c-MET* in GC metastasis and suggest that targeting specific molecular components of their signaling pathways will provide new opportunities for GC treatment [49]. The study of Xing et al [50] demonstrated that CXCL16 mRNA expression was elevated in cancer tissue compared with adjacent mucosa, whereas CXCR6 was expressed in the opposite manner. In addition, expression of CXCL16 inversely correlated with tumor stage, the invasion depth of the tumor and lymphatic invasion, what may suggest that this chemokine and its receptor CXCR6 may play a role in gastric tumorigenesis [50].

## 2.5. The Importance of Interaction of Chemokines and Their Specific Receptors in GC Progression

Chemokines are able to bind the extracellular domain of chemokine receptors, which consists of the N-terminus and extracellular loops. During the activation, the intracellular domains dissociate from G-proteins, composed of three subunits such as  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  heterotrimers [11]. The result of this process is the formation of the second messengers inositol triphosphate (IP3) and diacylglycerol (DAG), leading to the activation of multiple downstream signaling cascades and cytoplasmic calcium mobilization,



including phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt, Ras/mitogen-activated protein kinase (MAPK), and Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT) pathways [11,51,52]. Abnormal activation of PI3K/Akt and Wnt/ $\beta$ -catenin pathways has been found to promote GC progression and poor prognosis of cancer patients, suggesting their potential therapeutic target for GC patients [11,53–55]. It has been shown that MAPK pathways alterations may lead to GC, including *H. pylori* MAPK-triggering to transform from gastric normal epithelium to GC development. Moreover, the impact of the MAPKs in GC progression and metastasogenesis and the involvement of the dysregulated kinase pathways in GC encourage new studies on therapeutic drugs which might improve the survival of GC patients [55]. The study of Ji et al. [56] demonstrated an immunoregulatory role of  $\beta$ -catenin signaling in GC and suggested the therapeutic potential of CCL28 blockade for the treatment of GC, because this chemokine was proved to be as a key linker between the oncogenic  $\beta$ -catenin signaling and the GC microenvironment.

Based on presented investigations, chemokines and their specific receptors may be used as targets for biopharmaceuticals and improve treatment process of patients with many diseases, including GC. The CXCR4/CXCL12 axis was taken into consideration as a potential factor in GC therapy [39]. One of the chemokine-targeting drugs already used in other diseases is Plerixafor [57]. This substance blocks CXCR4 from binding to CXCL12. It enables mobilization of hematopoietic stem cells to peripheral blood and in result can be used for transplantation of hematopoietic stem cells in diseases such as lymphomas and multiple myeloma. [57]. Moreover, serum levels of chemokines may become predicting factors for response to treatment or resistance to drugs. The results of Zhai et al. [58] presented that higher serum level of CXCL8 mediated resistance to platinum-based antineoplastic drugs in GC patients [58]. CXCR2 promotes the process of metastasogenesis and tumor growth, while the two chemokines that bind to CXCR2 (CXCL1 and CXCL5) are released by macrophages, and this process is supported by GC cells. Thus, this receptor can also be a good target in developing new strategies of GC treatment [59].

### 3. Conclusions

GC is the fifth most common cancer in the world. Therefore, non-invasive methods of diagnosing GC at an early stage are necessary. Selected chemokines and their specific receptors play a potential role as future biomarkers which can be used in the process of diagnosing GC and selecting appropriate treatment for patients. There is a need for more research on a larger cohort of GC patients to determine which chemokines are the most specific for GC and which of them might be used as potential tumor biomarkers for GC in the future.

**Author Contributions:** E.P., M.L.-Z. and B.M. made significant contributions to conception, study design, acquisition of data, and interpretation of data; took part in drafting the article or revising it critically for important intellectual content; agreed to submit to the current journal; gave final approval of the version to be published; and agree to be accountable for all aspects of the work. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** The present project was funded by the Medical University of Białystok, Poland.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

### References

1. Cancer Today by International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. The Global Cancer Observatory—World Fact Sheets. 2018. Available online: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf> (accessed on 30 March 2020).
2. Rawla, P.; Barsouk, A. Epidemiology of gastric cancer: Global trends, risk factors and prevention. *Prz. Gastroenterol.* **2019**, *14*, 26–38. [CrossRef] [PubMed]
3. Verbeke, H.; Geboes, K.; Van Damme, J.; Struyf, S. The role of CXC chemokines in the transition of chronic inflammation to esophageal and gastric cancer. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1825*, 117–129. [CrossRef] [PubMed]

4. Sitarz, R.; Skierucha, M.; Mielko, J.; Offerhaus, G.J.A.; Maciejewski, R.; Polkowski, W.P. Gastric cancer: Epidemiology, prevention, classification, and treatment. *Cancer Manag. Res.* **2018**, *10*, 239–248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Fock, K.M. Review article: The epidemiology and prevention of gastric cancer. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2014**, *40*, 250–260. [[CrossRef](#)]
6. Hu, P.J.; Chen, M.Y.; Wu, M.S.; Lin, Y.-C.; Shih, P.-H.; Lai, C.-H.; Lin, H.-J. Clinical evaluation of CA72-4 for screening gastric cancer in a healthy population: A multicenter retrospective study. *Cancers* **2019**, *11*, 733. [[CrossRef](#)]
7. Joypaul, B.; Browning, M.; Newman, E.; Byrne, D.; Cuschieri, A. Comparison of serum CA 72-4 and CA 19-9 levels in gastric cancer patients and correlation with recurrence. *Am. J. Surg.* **1995**, *169*, 595–599. [[CrossRef](#)]
8. Łukaszewicz-Zajac, M.; Mroczko, B.; Szmitkowski, M. Gastric cancer-The role of matrix metalloproteinases in tumor progression. *Clin. Chim. Acta* **2011**, *412*, 1725–1730. [[CrossRef](#)]
9. Łukaszewicz-Zajac, M.; Szmitkowski, M.; Litman-Zawadzka, A.; Mroczko, B. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in comparison to other inflammatory proteins in gastric cancer (GC). *Cancer Investig.* **2016**, *34*, 305–312. [[CrossRef](#)]
10. Baj-Krzyworzeka, M.; Węglarczyk, K.; Baran, J.; Szczepanik, A.; Szura, M.; Siedlar, M. Elevated level of some chemokines in plasma of gastric cancer patients. *Cent. Eur. J. Immunol.* **2016**, *41*, 358–362. [[CrossRef](#)]
11. Lee, H.J.; Song, I.C.; Yun, H.J.; Jo, D.Y.; Kim, S. CXC chemokines and chemokine receptors in gastric cancer: From basic findings towards therapeutic targeting. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 1681–1693. [[CrossRef](#)]
12. Łukaszewicz-Zajac, M.; Gryko, M.; Mroczko, B. The role of selected chemokines and their specific receptors in pancreatic cancer. *Int. J. Biol. Mark.* **2018**, *33*, 141–147. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Łukaszewicz-Zajac, M.; Mroczko, B.; Szmitkowski, M. Chemokines and their receptors in esophageal cancer-the systematic review and future perspectives. *Tumor Biol.* **2015**, *36*, 5707–5714. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Pączek, S.; Łukaszewicz-Zajac, M.; Mroczko, B. Chemokines-what is their role in colorectal cancer? *Cancer Control.* **2020**, *27*, 1073274820903384. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Elemam, N.M.; Hannawi, S.; Maghazachi, A.A. Role of chemokines and chemokine receptors in rheumatoid arthritis. *Immunotargets Ther.* **2020**, *9*, 43–56. [[CrossRef](#)]
16. Chen, X.; Chen, R.; Jin, R.; Huang, Z. The role of CXCL chemokine family in the development and progression of gastric cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2020**, *13*, 484–492.
17. Goubran, H.A.; Kotb, R.R.; Stakiw, J.; Emara, M.E.; Burnouf, T. Regulation of tumor growth and metastasis: The role of tumor microenvironment. *Cancer Growth Metastasis* **2014**, *7*, 9–18. [[CrossRef](#)]
18. Binnewies, M.; Roberts, E.W.; Kersten, K.; Chan, V.; Fearon, D.F.; Merad, M.; Coussens, L.M.; Gaborilovich, D.I.; Ostrand-Rosenberg, S.; Hedrick, C.C.; et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nat. Med.* **2018**, *24*, 541–550. [[CrossRef](#)]
19. Chen, W.; Qin, Y.; Liu, S. CCL20 Signaling in the tumor microenvironment. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2020**, *1231*, 53–65. [[CrossRef](#)]
20. Gao, Y.J.; Liu, D.L.; Li, S.; Yan, G.F.; Li, L.; Zhu, H.Y.; Cao, G.Y. Down-regulation of CXCL 11 inhibits colorectal cancer cell growth and epithelial-mesenchymal transition. *OncoTargets Ther.* **2018**, *11*, 7333–7343. [[CrossRef](#)]
21. Payne, A.S.; Cornelius, L.A. The role of chemokines in melanoma tumor growth and metastasis. *J. Investig. Dermatol.* **2002**, *118*, 915–922. [[CrossRef](#)]
22. Luker, K.E.; Luker, G.D. Functions of CXCL12 and CXCR4 in breast cancer. *Cancer Lett.* **2006**, *238*, 30–41. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Yoneda, J.; Kuniyasu, H.; Crispens, M.A.; Price, J.E.; Bucana, C.D.; Fidler, I.J. Expression of angiogenesis-related genes and progression of human ovarian carcinomas in nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, 447–454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Lim, J.B.; Chung, H.W. Serum ENA<sup>78</sup>/CXCL5, SDF-1/CXCL12, and their combinations as potential biomarkers for prediction of the presence and distant metastasis of primary gastric cancer. *Cytokine* **2015**, *73*, 16–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Park, J.Y.; Park, K.H.; Bang, S.; Kim, M.H.; Lee, J.-E.; Gang, J.; Koh, S.S.; Song, S.Y. CXCL5 overexpression is associated with late stage gastric cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **2007**, *133*, 835–840. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Yamamoto, Y.; Kuroda, K.; Sera, T.; Sugimoto, A.; Kushiyama, S.; Nishimura, S.; Togano, S.; Okuno, T.; Yoshii, M.; Tamura, T.; et al. The clinicopathological significance of the CXCR2 ligands, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL7, and CXCL8 in gastric cancer. *Anticancer Res.* **2019**, *39*, 6645–6652. [[CrossRef](#)]



27. Jefarzadeh, A.; Nemati, M.; Jefarzadeh, S. The important role played by chemokines influence the clinical outcome of *Helicobacter pylori* infection. *Life Sci.* **2019**, *231*, 116688. [\[CrossRef\]](#)
28. Haghazali, M.; Molaei, M.; Mashayekhi, R.; Zojaji, H.; Pourhoseingholi, M.A.; Shooshtarizadeh, T.; Mirsattari, D.; Zali, M.R. Proinflammatory cytokines and thrombomodulin in patients with peptic ulcer disease and gastric cancer, infected with *Helicobacter pylori*. *Indian J. Pathol. Microbiol.* **2011**, *54*, 103–106. [\[CrossRef\]](#)
29. Lee, K.E.; Khoi, P.N.; Xia, Y.; Park, J.S.; Joo, Y.E.; Kim, K.K.; Choi, S.Y.; Jung, Y.D. *Helicobacter pylori* and interleukin-8 in gastric cancer. *World J. Gastroenterol.* **2013**, *19*, 8192–8202. [\[CrossRef\]](#)
30. Kim, H.K.; Song, K.S.; Park, Y.S.; Kang, Y.H.; Lee, Y.J.; Kim, H.K.; Ryu, K.W.; Bae, J.M.; Kim, S. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: Possible role of a metastasis predictor. *Eur. J. Cancer.* **2003**, *39*, 184–191. [\[CrossRef\]](#)
31. Wang, T.; Wei, Y.; Tian, L.; Song, H.; Ma, Y.; Yao, Q.; Feng, M.; Wang, Y.; Gao, M.; Xue, Y. C-C motif chemokine ligand 5 (CCL5) levels in gastric cancer patient sera predict occult peritoneal metastasis and a poorer prognosis. *Int. J. Surg.* **2016**, *32*, 136–142. [\[CrossRef\]](#)
32. Ding, H.; Zhao, L.; Dai, S.; Li, L.; Wang, F.; Shan, B. CCL5 secreted by tumor associated macrophages may be a new target in treatment of gastric cancer. *Biomed. Pharmacother.* **2016**, *77*, 142–149. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Tao, L.L.; Shi, S.J.; Chen, L.B.; Huang, G.C. Expression of monocyte chemotactic protein-1/CCL2 in gastric cancer and its relationship with tumor hypoxia. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 4421–4427. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Marsigliante, S.; Vetrugno, C.; Muscella, A. Paracrine CCL20 loop induces epithelial-mesenchymal transition in breast epithelial cells. *Mol. Carcinog.* **2016**, *55*, 1175–1186. [\[CrossRef\]](#)
35. Ding, X.; Wang, K.; Wang, H.; Zhang, G.; Liu, Y.; Yang, Q.; Chen, W.; Hu, S. High expression of CCL20 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after curative resection. *J. Gastrointest Surg.* **2012**, *16*, 828–836. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Liu, J.; Zhang, N.; Li, Q.; Zhang, W.; Ke, F.; Leng, Q.; Wang, H.; Chen, J.; Wang, H. Tumor-associated macrophages recruit CCR6+ regulatory T cells and promote the development of colorectal cancer via enhancing CCL20 production in mice. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e19495. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Jin, J.J.; Dai, F.X.; Long, Z.W.; Cai, H.; Zhou, Y.; Hong, Q.; Dong, Q.-Z.; Wang, Y.-N.; Huang, H. CXCR6 predicts poor prognosis in gastric cancer and promotes tumor metastasis through epithelial-mesenchymal transition. *Oncol. Rep.* **2017**, *37*, 3279–3286. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Xu, G.; Lu, K.; Shen, M.; Zhang, P.; Pan, W.; Tang, Z. Correlation between chemokine CXCL-12 and its receptor CXCR4 expression is associated with clinical prognosis of gastric cancer. *Clin. Lab.* **2020**, *66*, 190217. [\[CrossRef\]](#)
39. Rubie, C.; Kauffels, A.; Kölsch, K.; Glanemann, M.; Justinger, C. CXCL12/CXCR4 display an inverse mRNA expression profile in gastric carcinoma that correlates with tumor progression. *Oncol. Lett.* **2016**, *11*, 360–364. [\[CrossRef\]](#)
40. Lee, J.H.; Cho, Y.S.; Lee, J.Y. The chemokine receptor CCR4 is expressed and associated with a poor prognosis in patients with gastric cancer. *Ann. Surg.* **2009**, *249*, 933–941. [\[CrossRef\]](#)
41. Chen, F.; Yuan, J.; Yan, H.; Liu, H.; Yin, S. Chemokine receptor CXCR3 correlates with decreased M2 macrophage infiltration and favorable prognosis in gastric cancer. *Biomed. Res. Int.* **2019**, 6832867. [\[CrossRef\]](#)
42. Li, Z.; Wang, Y.; Dong, S.; Ge, C.; Xiao, Y.; Li, R.; Ma, R.; Xue, Y.; Zhang, Q.; Lv, J.; et al. Association of CXCR1 and 2 expressions with gastric cancer metastasis in ex vivo and tumor cell invasion in vitro. *Cytokine* **2014**, *69*, 6–13. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Nambara, S.; Iguchi, T.; Oki, E.; Tan, P.; Maehara, Y.; Mimori, K. Overexpression of CXCR7 is a novel prognostic indicator in gastric cancer. *Dig. Surg.* **2017**, *34*, 312–318. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Li, Y.; Wang, H.C.; Wang, J.S.; Sun, B.; Li, L.P. Chemokine receptor 4 expression is correlated with the occurrence and prognosis of gastric cancer. *FEBS Open Bio.* **2020**, *10*, 1149–1161. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Zeng, D.; Zhou, R.; Yu, Y.; Zhang, J.; Sun, H.; Bin, J.; Liao, Y.; Rao, J.; Zhang, Y.; Liao, W. Gene expression profiles for a prognostic immunoscore in gastric cancer. *Br. J. Surg.* **2018**, *105*, 1338–1348. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Yang, Y.M.; Feng, A.L.; Zhou, C.J.; Liang, X.-H.; Mao, H.-T.; Deng, B.-P.; Yan, S.; Sun, J.-T.; Du, L.-T.; Liu, J.; et al. Aberrant expression of chemokine receptor CCR4 in human gastric cancer contributes to tumor-induced immunosuppression. *Cancer Sci.* **2011**, *102*, 1264–1271. [\[CrossRef\]](#)

47. Mocellin, S.; Rossi, C.R.; Pilati, P.; Nitti, D. Tumor necrosis factor, cancer and anticancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2005**, *16*, 35–53. [[CrossRef](#)]
48. Karin, M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* **2006**, *441*, 431–436. [[CrossRef](#)]
49. Cheng, Y.; Song, Y.; Qu, J.; Che, X.; Song, N.; Fan, Y.; Wen, T.; Xu, L.; Gong, J.; Wang, X.; et al. The chemokine receptor CXCR4 and c-MET cooperatively promote epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells. *Transl. Oncol.* **2018**, *11*, 487–497. [[CrossRef](#)]
50. Xing, Y.N.; Xu, X.Y.; Nie, X.C.; Yang, X.; Yu, M.; Xu, H.-M.; Liu, Y.-P.; Takano, Y.; Zheng, H.-C. Role and clinicopathologic significance of CXC chemokine ligand 16 and chemokine (C-X-C motif) receptor 6 expression in gastric carcinomas. *Hum. Pathol.* **2012**, *43*, 2299–2307. [[CrossRef](#)]
51. Balkwill, F.R. The chemokine system and cancer. *J. Pathol.* **2012**, *226*, 148–157. [[CrossRef](#)]
52. Burger, J.A. Chemokines and chemokine receptors in chronic lymphocytic leukemia (CLL): From understanding the basics towards therapeutic targeting. *Semin. Cancer Biol.* **2010**, *20*, 424–430. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Resende, C.; Ristimäki, A.; Machado, J.C. Genetic and epigenetic alteration in gastric carcinogenesis. *Helicobacter* **2010**, *15* (Suppl. S1), 34–39. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Oda, N.; Tsujino, T.; Tsuda, T.; Yoshida, K.; Nakayama, H.; Yasui, W.; Tahara, E. DNA ploidy pattern and amplification of ERBB and ERBB2 genes in human gastric carcinomas. *Virchows Arch. B Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* **1990**, *58*, 273–277. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Magnelli, L.; Schiavone, N.; Staderini, F.; Biagioni, A.; Papucci, L. MAP kinases pathways in gastric cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2893. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Ji, L.; Qian, W.; Gui, L.; Ji, Z.; Yin, P.; Lin, G.N.; Wang, Y.; Ma, B.; Gao, W.-Q. Blockade of  $\beta$ -Catenin-Induced CCL28 Suppresses gastric cancer progression via inhibition of treg cell infiltration. *Cancer Res.* **2020**, *80*, 2004–2016. [[CrossRef](#)]
57. Bilgin, Y.M.; De Greef, G.E. Plerixafor for stem cell mobilization: The current status. *Curr. Opin. Hematol.* **2016**, *23*, 67–71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Zhai, J.; Shen, J.; Xie, G.; Wu, J.; He, M.; Gao, L.; Zhang, Y.; Yao, X.; Shen, L. Cancer-associated fibroblasts-derived IL-8 mediates resistance to cisplatin in human gastric cancer. *Cancer Lett.* **2019**, *454*, 37–43. [[CrossRef](#)]
59. Zhou, Z.; Xia, G.; Xiang, Z.; Liu, M.; Wei, Z.; Yan, J.; Chen, W.; Zhu, J.; Awasthi, N.; Sun, X.; et al. A C-X-C Chemokine receptor type 2-dominated cross-talk between tumor cells and macrophages drives gastric cancer metastasis. *Clin. Cancer Res.* **2019**, *25*, 3317–3328. [[CrossRef](#)]

**Publisher’s Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Article

# Serum CXCL8 and Its Specific Receptor (CXCR2) in Gastric Cancer

Elżbieta Pawluczuk <sup>1</sup>, Marta Łukaszewicz-Zajac <sup>2</sup> , Mariusz Gryko <sup>3</sup>, Agnieszka Kulczyńska-Przybik <sup>1</sup>   
and Barbara Mroczko <sup>1,2,\*</sup> 

<sup>1</sup> Department of Neurodegeneration Diagnostics, Medical University of Białystok, 15-269 Białystok, Poland; elzbieta.pawluczuk16@wp.pl (E.P.); agnieszka.kulczynska-przybik@umb.edu.pl (A.K.-P.)

<sup>2</sup> Department of Biochemical Diagnostics, Medical University of Białystok, 15-269 Białystok, Poland; marta.lukaszewicz-zajac@umb.edu.pl

<sup>3</sup> Second Department of General Surgery, Medical University of Białystok, 15-274 Białystok, Poland; mariusz\_gryko@vp.pl

\* Correspondence: mroczko@umb.edu.pl



**Citation:** Pawluczuk, E.; Łukaszewicz-Zajac, M.; Gryko, M.; Kulczyńska-Przybik, A.; Mroczko, B. Serum CXCL8 and Its Specific Receptor (CXCR2) in Gastric Cancer. *Cancers* **2021**, *13*, 5186. <https://doi.org/10.3390/cancers13205186>

Academic Editor: Hidekazu Suzuki

Received: 21 September 2021

Accepted: 13 October 2021

Published: 15 October 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Simple Summary:** Gastric cancer (GC) is a serious medical problem; thus, there is a need for the improvement of the diagnostic process of GC patients because this malignancy is still detected at a late stage of the disease. It is suggested that selected chemokines such as CXCL8 and its specific receptor CXCR2 are involved in cancer progression, including GC. Therefore, we assessed the serum levels of these proteins in 98 subjects: 64 patients with GC and 34 healthy volunteers. The aim of our study was to evaluate the usefulness of serum CXCL8 and CXCR2 concentrations as biomarkers in the diagnosis and progression of this cancer. Our findings suggest that serum CXCL8 might be used as a potential biomarker in the diagnosis of GC patients, especially in combined assessments with classical tumor markers. Our results indicate the role of the CXCL8/CXCR2 axis as well as the inflammation in the pathogenesis of this malignancy. Moreover, serum CXCL8 was the significant predictor of GC risk.

**Abstract:** Gastric cancer (GC) is the second leading cause of cancer-related deaths worldwide. This malignancy is usually diagnosed at an advanced stage. Therefore, novel biomarkers useful in the early detection of GC are sorely needed. Some authors suggest the role of chemokines and their specific receptors in GC pathogenesis. The aim of the study was to investigate whether serum CXCL8 and its receptor (CXCR2) might be considered as potential candidates for biomarkers in the diagnosis and prognosis of GC. The study included 98 subjects: 64 GC patients and 34 healthy volunteers. CXCL8 and CXCR2 concentrations were assessed by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Serum CXCL8 and CXCR2 concentrations were significantly higher in GC patients than in healthy controls, similar to the well-established tumor marker (CA19-9) and marker of inflammation (CRP). Diagnostic sensitivity of CXCL8 was the highest among all proteins tested and increased for the combined assessment with CA19-9. The area under the ROC curve for CXCL8 was higher than those for CXCR2 and classical tumor markers. Serum CXCL8 levels were indicated as a significant risk factor of GC occurrence. Our findings suggest that serum CXCL8 is a promising candidate for a biomarker in GC diagnosis and might be used as a significant predictor of GC risk.

**Keywords:** chemokines; gastric cancer; receptors for chemokines

## 1. Introduction

Gastric cancer (GC) is the fifth most commonly diagnosed malignancy worldwide and the fourth most common cancer among men and the sixth in women, according to data published by the World Health Organization (WHO) in 2020. Moreover, it is the third leading cause of cancer-related death [1]. The five-year survival rate for GC patients is lower than 30% [2]. The early stage of this disease is usually asymptomatic or the

symptoms are not specific; thus, the diagnostic process is unnecessarily prolonged. When the stage of the cancer is more advanced, other symptoms may occur such as abdominal pain, weight loss or hematemesis. Approximately 80% of GC patients are diagnosed in the advanced stage, when the possibilities of the treatment are limited [3]. The main risk factors for this malignancy are: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection, smoking, alcohol abuse, increased salt intake, obesity, blood group A or GC in family history [4].

Chemokines are small proteins involved in an inflammation process, autoimmune and cardiovascular diseases as well as malignant diseases [5,6]. These proteins may also lead to tumorigenesis, metastasis, angiogenesis, proliferation and protection from the host response [6,7]. Chemokines are grouped into four classes: CC, XC, CXC and CX3C, where C stands for the key cysteine and X for amino acid [3]. Chemokines, especially the CXC family and their receptors, have an important role in GC pathogenesis and may be used as biomarkers of tumor development and progression in the future [8].

CXCL8 is a chemokine from the CXC group that is also known as interleukin-8 (IL-8). Cells that produce CXCL8 have origins in epithelial and endothelial tissue. CXCL8 is also synthesized by monocytes, macrophages and fibroblasts [9,10]. The secretion of this protein is stimulated by hypoxia, reactive oxygen species (ROS) and interleukins: IL-1, IL-6, IL-22 and chemokine CXCL12 [9]. The presence of *H. pylori* infection and gastritis may lead to CXCL8 synthesis by stomach epithelial cells. In patients with chronic gastritis, CXCL8 may also be secreted by neutrophils in the stomach lamina propria [8,9]. CXCL8 recruits neutrophils but these cells cannot eliminate *H. pylori* infection, causing chronic neutrophil inflammation and gastritis. Subsequently, chronic inflammation may contribute to the development of GC. Neutrophils and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) might be recruited to the tumor, that can promote tumor cell proliferation, vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and neoangiogenesis [10].

It has been proved that CXCL8 can exist in two forms, as a monomer and as a dimer. As a monomer, CXCL8 binds only to the chemokine receptor type 1 (CXCR1), while both monomers and dimers interact with the chemokine receptor type 2 (CXCR2) [9]. Some clinical investigations have proved that CXCR1 and CXCR2 are associated with a poor GC prognosis [11]. Both receptors have a 76% common sequence and similar affinity in attaching to CXCL8 [9]. The difference is that CXCR1 weakly binds to other chemokines, whereas CXCR2 interacts with CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL7 and CXCL8 [9,12]. CXCR1 and CXCR2 are seven transmembrane G protein-coupled receptors [13]. The overexpression of CXCR1 and CXCR2 was associated with an advanced GC stage and the presence of distant metastasis [14].

The diagnosis of GC is established based on invasive methods. One of them is gastroscopy with a biopsy and histopathological examination. Additional methods are computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI) and endoscopic ultrasound scanning (EUS) [15]. Moreover, the measurement of biochemical tumor markers such as cancer antigen 72-4 (CA72-4), carcinoembryonic antigen (CEA) or carbohydrate antigen (CA19-9) concentrations are also very important in the diagnosis of patients with this malignancy; however, these biomarkers cannot be used in the early detection of GC. Thus, there is a need for novel blood biomarkers to improve the diagnostic process, especially the early detection of this disease and escalate the treatment chances as well as the number of cancer survivors [16–18]. Therefore, the aim of the study was to investigate whether serum levels of CXCL8 and its specific receptor CXCR2 may be used as potential biochemical markers for GC. Based on our knowledge, the present study is the first to compare the significance of these proteins in relation to the well-established tumor markers (CEA and CA19-9) and the marker of inflammation—C-reactive protein (CRP)—in the diagnosis and progression of GC. Moreover, the present paper is a continuation of our previous research, in which we assessed that serum concentrations of selected chemokines and their specific receptors might be used as potential tumor biomarkers for gastrointestinal malignancies, including pancreatic, esophageal and colorectal cancer [19–25].

## 2. Materials and Methods

The study group consisted of 98 patients—64 GC patients (41 males and 23 females, aged from 28 to 82 years) and 34 healthy volunteers with a negative history of inflammatory diseases and cancers (24 males and 10 females, aged from 27 to 76) as the control group. GC patients were diagnosed and operated on at the Second Department of General Surgery, Medical University of Białystok (Poland). The microscopic examination of material obtained during biopsy and/or surgery was used in the clinical diagnosis of GC.

The GC group was divided into 4 subgroups regarding the GC stage: stage I, stage II, stage III and stage IV. The GC patients were staged according to the TNM Classification of Malignant Tumors UICC (TNM—depth of tumor invasion, lymph nodes metastasis, distant metastasis) by the International Union Against Cancer (Genève, Switzerland UICC). Moreover, features such as Lauren classification and grading were also evaluated. The characteristics of GC patients are presented in Table 1.

**Table 1.** Characteristics of gastric cancer patients.

| Gastric Cancer Patients         |           | 64    |
|---------------------------------|-----------|-------|
| Gender                          | Female    | 23    |
|                                 | Male      | 41    |
| Age                             | Median    | 64    |
|                                 | Range     | 28–82 |
| Tumor stage                     | I         | 8     |
|                                 | II        | 10    |
|                                 | III       | 28    |
|                                 | IV        | 16    |
|                                 | Undefined | 2     |
| Tumor size (T-stage)            | T1 + T2   | 10    |
|                                 | T3        | 19    |
|                                 | T4        | 35    |
|                                 | N0        | 16    |
| Lymph node metastases (N-stage) | N1 + 2    | 9     |
|                                 | N3        | 38    |
|                                 | Undefined | 1     |
| Distant metastases (M-stage)    | M0        | 46    |
|                                 | M1        | 16    |
|                                 | Undefined | 2     |
| Lauren type                     | 1         | 34    |
|                                 | 2         | 24    |
|                                 | Undefined | 6     |
| Control group                   |           | 34    |
| Gender                          | Female    | 10    |
|                                 | Male      | 24    |
| Age                             | Median    | 51.5  |
|                                 | Range     | 27–76 |

The project was approved by the Local Ethics Committee (R-I-002/65/2017) of the Medical University of Białystok (Białystok, Poland). All patients and healthy volunteers were granted informed consent to participate in the study.

Blood samples were taken from GC patients before the treatment and frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Serum levels of CXCL8 (Quantikine ELISA Human CXCL8/IL8 Immunoassay, R&D Systems, Abingdon, UK) and CXCR2 (EIAab, Wuhan, China) were assessed with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the manufactures' instructions. Concentrations of classical cancer markers such as carcinoembryonic antigen (CEA) and carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) were measured by the chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) on the ARCHITECT 8200 ci (Abbott, Chicago, IL, USA), while serum C-reactive protein (CRP) concentrations using turbidimetric method also on ARCHITECT 8200 ci (Abbott, Chicago, IL, USA).



In order to select the optimal predicted probability cut-off values, Youden's index was used. The reference cut-off values were as follows: 23.11 pg/mL for CXCL8; 1.15 ng/mL for CXCR2; 4.65 ng/mL for CEA; 5.59 U/mL for CA19-9; and 5.50 mg/L for CRP.

### 3. Statistical Analysis

Distributions of serum concentrations of all analyzed proteins (CXCL8, CXCR2, CA19-9, CEA and CRP) both in GC patients and control group were assessed using the Shapiro–Wilk test, with conclusions that the normal distribution hypothesis has to be rejected; thus, non-parametric statistical analyses were performed.

For two-groups analysis, the Mann–Whitney test was used, while in the case of three or more groups to compare, the Kruskal–Wallis test was exploited. Further analysis of groups with statistically significant differences was conducted with the use of a post hoc Dwass–Steele–Critchlow–Fligner test. Correlations between parameters were calculated utilizing Spearman's rank correlation test. The calculated differences were found statistically significant if the  $p$  value was less than 0.05.

The assessment of diagnostic usefulness of the analyzed proteins was made based on diagnostic sensitivity, specificity, accuracy and positive and negative predictive values. The Receiver Operating Characteristic (ROC) curves analysis was also calculated.

Statistical analysis was mostly made in IBM SPSS Statistics 20.0 software, while additional results processing, like ROC curves analysis and calculating diagnostic parameters of tests, were performed in Microsoft Office Excel.

Logistic regression was used to assess correlations between risk factors and GC. Univariate logistic regression models were obtained for each risk factor and multivariate analyses were employed for variables  $p < 0.05$ .

### 4. Results

Serum levels of CXCL8, CXCR2, CRP, CA19-9 and CEA were measured and compared between the two analyzed groups—the GC patients group and the control group, as shown in Table 2. Concentrations of CXCL8 were significantly higher in GC patients than in the control group (28.486 vs. 6.561 pg/mL,  $p < 0.001$ ). Moreover, serum CXCR2 levels were also significantly elevated in GC patients when compared to healthy volunteers (1.449 vs. 0.638 ng/L;  $p < 0.001$ ). The concentrations of classical biomarkers—CA19-9 (7.875 vs. 4.965 U/mL,  $p = 0.009$ ) and CEA (1.67 vs. 1.46 ng/mL;  $p = 0.797$ ) as well as CRP (16.4 vs. 1.05 mg/L;  $p < 0.001$ ) were higher in the cancer group than in healthy volunteers, but only in the case of CEA was the difference not statistically significant (Table 2).

**Table 2.** Serum concentrations of proteins in patients with gastric cancer and the control group.

|                                     |         | CXCR2<br>[ng/mL] | CXCL8<br>[pg/mL] | CRP<br>[mg/L] | CA19-9<br>[U/mL] | CEA<br>[ng/mL] |
|-------------------------------------|---------|------------------|------------------|---------------|------------------|----------------|
| Gastric cancer patients             | Minimum | 0.000            | 0.000            | 0.400         | 0.000            | 0.000          |
|                                     | Median  | 1.449            | 28.486           | 16.400        | 7.875            | 1.670          |
|                                     | Maximum | 4.080            | 184.054          | 310.400       | 1200.000         | 256.160        |
| Control group (healthy individuals) | Minimum | 0.000            | 0.000            | 0.200         | 2.000            | 0.500          |
|                                     | Median  | 0.638            | 6.561            | 1.050         | 4.965            | 1.460          |
|                                     | Maximum | 1.895            | 27.007           | 5.000         | 40.970           | 4.540          |
| $p$ (Mann–Whitney test)             |         | $p < 0.001$      | $p < 0.001$      | $p < 0.001$   | 0.009            | 0.797          |

Table 3 represents the serum concentrations of biomarkers in relation to TNM stage and clinicopathological characteristics of the tumor. The highest concentrations of CXCL8 were observed in stage I of GC (33.089 pg/mL), while CXCR2 (1.823 ng/mL) and CA19-9 (14.815 U/mL) levels were the highest in stage III of the disease. In addition, CRP (52.9 mg/L) and CEA (1.810 ng/mL) concentrations were the highest in stage IV of GC; however, the statistically significant differences between tumor stages were found only for CRP concentrations ( $p = 0.044$ ). Moreover, serum levels of CXCL8, CXCR2 and classical

tumor markers were higher in Lauren type 2 than in patients with Lauren type 1, while CRP concentrations were the highest in patients with Lauren type 1. Interestingly, CXCL8 and CXCR2 concentrations were found to be the highest in patients with a greater depth of tumor invasion (T4 stage) in comparison to T1 + 2 and T3 patients and likewise with the levels of classical tumor markers (CEA and CA19-9) and CRP; however, these differences were statistically significant only for CRP concentrations ( $p = 0.020$ ) in the Kruskal–Wallis test. Moreover, serum CA19-9 levels were significantly elevated in T4 subgroup in comparison to T1 + 2 subjects ( $p = 0.031$ ) (Table 3). If we consider the relationship between serum levels of analyzed proteins and the presence of lymph node and distant metastases (N and M factor), CXCL8 concentrations were the highest in patients with nodal involvement (N3 subgroup) when compared to N0 and N1 + 2 patients. Similar results were also observed for CRP, CEA and CA19-9 levels; however, a statistically significant difference was found for CA19-9 levels ( $p = 0.034$ ). Serum CXCR2 levels were the most elevated in N1 + 2 patients, but these differences were not statistically relevant. There were also no significant differences between CXCL8, CXCR2 and classical tumor markers levels and the presence of distant metastasis (M factor). Serum CRP levels were significantly elevated in patients with distant metastases than in subjects from the M0 subgroup ( $p = 0.048$ ) (Table 3).

**Table 3.** Median serum concentrations of assessed proteins in gastric cancer stages.

| GC Feature                                         | GC Stage    | CXCL8 [pg/mL] | CXCR2 [ng/mL] | CRP [mg/L] | CA19-9 [U/mL] | CEA [ng/mL] |
|----------------------------------------------------|-------------|---------------|---------------|------------|---------------|-------------|
| TNM stage                                          | I           | 33.089        | 1.260         | 4.550      | 5.790         | 1.740       |
|                                                    | II          | 19.615        | 0.878         | 4.500      | 6.240         | 1.215       |
|                                                    | III         | 32.709        | 1.823         | 17.250     | 14.815        | 1.515       |
|                                                    | IV          | 28.486        | 1.141         | 52.900     | 9.605         | 1.810       |
| $p$ (Kruskal–Wallis test)                          |             | 0.494         | 0.335         | 0.044 *    | 0.087         | 0.676       |
| T-stage                                            | T1 + 2      | 29.208        | 1.260         | 4.550      | 5.790         | 1.380       |
|                                                    | T3          | 23.775        | 0.940         | 3.000      | 5.960         | 1.240       |
|                                                    | T4          | 32.163        | 1.802         | 21.300     | 13.740        | 1.860       |
| $p$ (Kruskal–Wallis test)                          |             | 0.124         | 0.312         | 0.020 *    | 0.027 *       | 0.455       |
| $p$ (post hoc Dwass–Steele–Critchlow–Fligner test) | 1 + 2 vs. 3 |               |               | 0.809      | 0.444         |             |
|                                                    | 1 + 2 vs. 4 |               |               | 0.079      | 0.031 *       |             |
|                                                    | 3 vs. 4     |               |               | 0.061      | 0.264         |             |
|                                                    | N0          | 25.161        | 1.260         | 6.550      | 6.185         | 1.485       |
| N-stage                                            | N1 + 2      | 23.422        | 1.802         | 17.600     | 11.950        | 0.940       |
|                                                    | N3          | 30.513        | 1.449         | 20.150     | 13.475        | 1.915       |
|                                                    |             | 0.754         | 0.894         | 0.182      | 0.034 *       | 0.076       |
| $p$ (Kruskal–Wallis test)                          |             |               |               |            | 0.291         |             |
| $p$ (post hoc Dwass–Steele–Critchlow–Fligner test) | 0 vs. 1 + 2 |               |               |            | 0.032 *       |             |
|                                                    | 0 vs. 3     |               |               |            | 0.704         |             |
|                                                    | 1 + 2 vs. 3 |               |               |            |               |             |
| M-stage                                            | M0          | 28.620        | 1.590         | 10.500     | 7.495         | 1.485       |
|                                                    | M1          | 28.486        | 1.141         | 52.900     | 9.605         | 1.810       |
| $p$ (Mann–Whitney test)                            |             | 0.368         | 0.450         | 0.048 *    | 0.403         | 0.338       |

\* statistically significant when  $p < 0.05$ . Abbreviations: GC—gastric cancer, UICC—International Union Against Cancer, T-stage—depth of tumor invasion, N-stage—presence of lymph node metastasis, M-stage—presence of distant metastasis.

#### 4.1. Correlations between Serum Concentrations and Gastric Cancer Features

Spearman’s rank correlation test was performed to detect relations between serum concentrations of all analyzed proteins and selected GC features (Table 4). The serum CXCL8 concentration was found to be significantly correlated with its specific receptor CXCR2 concentration ( $r = 0.57$ ,  $p < 0.001$ ) as well as with CRP ( $r = 0.58$ ,  $p < 0.001$ ) and CA19-9 levels ( $r = 0.21$ ,  $p = 0.042$ ), whereas CXCR2 levels were associated with CRP concentrations ( $r = 0.54$ ,  $p < 0.01$ ).

**Table 4.** Correlations between gastric cancer features and concentrations of biomarkers for gastric cancer patients.

|         |   | T         | N         | Staging   | CXCR2     | CXCL8     | CRP       | CA19-9  | CEA     |
|---------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|---------|
| T       | r | 1.00      | 0.55      | 0.69      | 0.13      | 0.18      | 0.35      | 0.33    | 0.15    |
|         | p |           | <0.0001 * | <0.0001 * | 0.317     | 0.152     | 0.005 *   | 0.007 * | 0.229   |
| N       | r | 0.55      | 1.00      | 0.73      | −0.06     | 0.05      | 0.21      | 0.32    | 0.21    |
|         | p | <0.0001 * |           | <0.0001 * | 0.641     | 0.698     | 0.091     | 0.011 * | 0.103   |
| Staging | r | 0.69      | 0.73      | 1.00      | −0.01     | 0.13      | 0.35      | 0.27    | 0.14    |
|         | p | <0.0001 * | <0.0001 * |           | 0.957     | 0.319     | 0.005 *   | 0.034 * | 0.277   |
| CXCR2   | r | 0.13      | −0.06     | −0.01     | 1.00      | 0.57      | 0.54      | 0.16    | 0.09    |
|         | p | 0.317     | 0.641     | 0.957     |           | <0.0001 * | <0.0001 * | 0.105   | 0.400   |
| CXCL8   | r | 0.18      | 0.05      | 0.13      | 0.57      | 1.00      | 0.58      | 0.21    | −0.01   |
|         | p | 0.152     | 0.698     | 0.319     | <0.0001 * |           | <0.0001 * | 0.042 * | 0.957   |
| CRP     | r | 0.35      | 0.21      | 0.35      | 0.54      | 0.58      | 1.00      | 0.15    | 0.05    |
|         | p | 0.005 *   | 0.091     | 0.005 *   | <0.0001 * | <0.0001 * |           | 0.143   | 0.607   |
| CA19-9  | r | 0.33      | 0.32      | 0.27      | 0.16      | 0.21      | 0.15      | 1.00    | 0.21    |
|         | p | 0.007 *   | 0.011 *   | 0.034 *   | 0.105     | 0.042 *   | 0.143     |         | 0.038 * |
| CEA     | r | 0.15      | 0.21      | 0.14      | 0.09      | −0.01     | 0.05      | 0.21    | 1.00    |
|         | p | 0.229     | 0.103     | 0.277     | 0.400     | 0.957     | 0.607     | 0.038 * |         |

\* statistically significant when  $p < 0.05$ . Abbreviations: r—correlation coefficient, p—p value, GC—gastric cancer. UICC—International Union Against Cancer, T-stage—depth of tumor invasion, N-stage—presence of lymph node metastasis.

The relationship between chosen risk factors (serum CXCL8 and its specific receptor—CXCR2 as well as classical tumor markers and CRP) and GC risk was examined using univariate analysis to assess the risk factors that subsequently were employed in the multivariate model. Serum concentrations of CXCL8 ( $p < 0.001$ , OR = 1.125), CXCR2 ( $p < 0.001$ , OR = 3.923) and CRP ( $p = 0.005$ , OR = 1.457) were associated with a significantly increased risk of GC occurrence. Thus, these variables were included in the multivariate analysis. Ultimately, serum CXCL8 ( $p = 0.002$ , OR = 1.137) and CRP ( $p = 0.041$ , OR = 1.279) concentrations were indicated to be significant risk factors of GC occurrence (Table 5).

**Table 5.** Logistic regression test results in relationship between risk factors and gastric cancer (GC) occurrence.

| Univariate Logistic Regression Results    |       |                |                                 |       |
|-------------------------------------------|-------|----------------|---------------------------------|-------|
|                                           | p     | OR (Odd Ratio) | 95% C.I. (Confidence Intervals) |       |
| CXCR2                                     | 0.000 | 3.923          | 1.981                           | 7.766 |
| CXCL8                                     | 0.000 | 1.125          | 1.067                           | 1.186 |
| CRP                                       | 0.005 | 1.457          | 1.118                           | 1.900 |
| CA19-9                                    | 0.121 | 1.027          | 0.993                           | 1.061 |
| CEA                                       | 0.262 | 1.118          | 0.920                           | 1.357 |
| Multivariate Logistic Regression Results  |       |                |                                 |       |
| Full Logistic Model                       |       |                |                                 |       |
|                                           | p     | OR (Odd Ratio) | 95% C.I. (Confidence Intervals) |       |
| CXCR2                                     | 0.864 | 0.877          | 0.196                           | 3.932 |
| CXCL8                                     | 0.005 | 1.172          | 1.048                           | 1.311 |
| CRP                                       | 0.027 | 1.340          | 1.034                           | 1.737 |
| CA19-9                                    | 0.221 | 1.042          | 0.976                           | 1.112 |
| CEA                                       | 0.412 | 1.252          | 0.733                           | 2.138 |
| Logistic Model after Variable Elimination |       |                |                                 |       |
|                                           | p     | OR (Odd Ratio) | 95% C.I. (Confidence Intervals) |       |
| CXCL8                                     | 0.002 | 1.137          | 1.048                           | 1.234 |
| CRP                                       | 0.041 | 1.279          | 1.010                           | 1.620 |



#### 4.2. Diagnostic Usefulness of CXCL8 and CXCR2 as Gastric Cancer Biomarkers

According to the aim of the study, the assessment of diagnostic usefulness of serum CXCL8 and CXCR2 measurement in GC patients was performed basing on calculated diagnostic sensitivity, specificity, accuracy (ACC), positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) as well as the areas under ROC curves (AUC). The results are presented in Table 6.

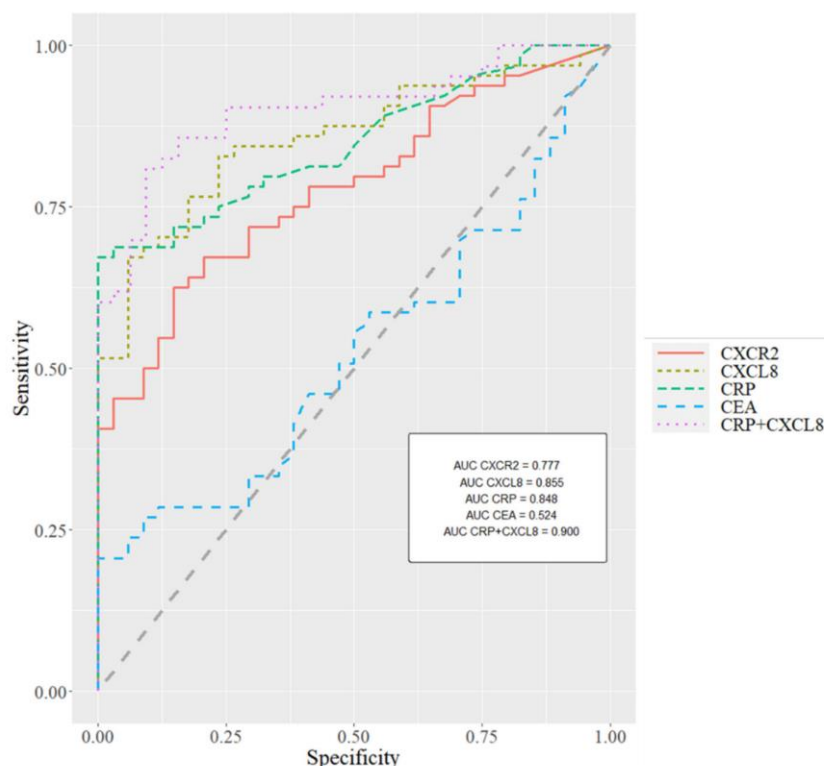
**Table 6.** Diagnostic criteria for biomarkers tested.

|                | Diagnostic Sensitivity (%) | Diagnostic Specificity (%) | PPV (%) | NPV (%) | ACC (%) |
|----------------|----------------------------|----------------------------|---------|---------|---------|
| CXCL8          | 67                         | 94                         | 96      | 60      | 77      |
| CXCR2          | 63                         | 85                         | 89      | 55      | 70      |
| CRP            | 67                         | 100                        | 100     | 62      | 79      |
| CA19-9         | 70                         | 59                         | 76      | 51      | 66      |
| CEA            | 20                         | 100                        | 100     | 40      | 48      |
| CXCL8 + CXCR2  | 81                         | 85                         | 91      | 71      | 83      |
| CXCL8 + CRP    | 83                         | 94                         | 96      | 74      | 87      |
| CXCL8 + CA19-9 | 89                         | 53                         | 78      | 72      | 77      |
| CXCL8 + CEA    | 72                         | 94                         | 96      | 64      | 80      |
| CXCR2 + CRP    | 78                         | 85                         | 91      | 67      | 81      |
| CXCR2 + CEA    | 69                         | 85                         | 90      | 59      | 74      |
| CXCR2 + CA19-9 | 84                         | 91                         | 95      | 76      | 87      |

Abbreviations: PPV—positive predictive value, NPV—negative predictive value, ACC—diagnostic accuracy.

The diagnostic sensitivity of CXCL8 (67%) was higher than for its receptor, CXCR2 (63%) and CEA (20%), and comparable to CRP (67%) and CA19-9 (70%) levels. The combined measurements of CXCL8 with classic tumor biomarkers increased the diagnostic sensitivity up to 89%, when CXCL8 was analyzed together with CA19-9. The diagnostic specificity of CXCL8 was higher (94%) in comparison to CA19-9 (59%), but lower than for CEA and CRP levels (both 100%). Moreover, positive predictive value (PPV) levels for CXCL8 (96%) and CXCR2 (89%) were higher than those of CA19-9 (76%) and lower when compared to CEA and CRP (both 100%). The combined measurements of CXCL8 and other proteins did not increase PPV value. The assessment of CXCR2 with all other proteins increased PPV values in comparison to individual PPV of CXCR2 (89%). Negative predictive value (NPV) concentrations for CXCL8 (60%) and CXCR2 (55%) were also higher than CA19-9 (51%) and CEA (40%). The highest NPV values were recorded for the combined measurements of CXCR2 with CA19-9 (76%) and CXCL8 with CRP (74%) levels. The diagnostic accuracy (ACC) of CXCL8 (77%) was higher than CXCR2 (70%) and classical tumor markers, CEA (48%) and CA19-9 (66%), but lower than for CRP (79%). The ACC values of combined measurements of CXCL8 with CRP and CXCR2 with CA19-9 were found to be the highest (both 87%) (Table 6).

To evaluate the diagnostic significance of CXCL8 and its receptor as candidates for GC biomarkers, the areas under ROC curves (AUC) were also calculated. ROC curves for all biomarkers are visualized in Figure 1. The AUC for CXCL8 (0.8552,  $p < 0.001$ ) was higher than the AUC for its receptor CXCR2 (AUC = 0.7773,  $p < 0.001$ ) and classical tumor markers (CEA—AUC = 0.5159 and CA19-9—AUC = 0.6606), and also higher than the AUC for CRP levels (AUC = 0.8488,  $p < 0.001$ ). Moreover, the combined analysis of CXCL8 and CRP increased the AUC to 0.900 ( $p < 0.001$ ) (Figure 1).



**Figure 1.** The areas under ROC (Receiver Operating Characteristic) curves for biomarkers tested in gastric cancer.

## 5. Discussion

GC is a serious medical problem. According to WHO statistics, GC accounted for 5.6% of all new cancer cases in 2020. The five-year prevalence of this cancer is 23.70 per 100,000 individuals [1]. Thus, there is a need for the improvement of the diagnostic process and non-invasive methods such as the measurement of new biomarkers concentrations because GC is still diagnosed at a late stage. Many researchers found that selected chemokines such as CXCL8 and its specific receptor CXCR2 are involved in cancer progression via the stimulation of tumor invasion, angiogenesis and metastasis. Some clinical investigations suggest that CXCL8 plays a significant role in cancer development, including GC [10]. A growing body of evidence indicated that the CXCR2 receptor interacts with several chemokines including CXCL1, -2, -3, -5, -6, -7 as well as with CXCL8 [26]. Some clinical investigations suggest that CXCL8 and its receptor CXCR2 might be candidates for biomarkers for GC. Therefore, the aim of this study was to assess the potential significance of CXCL8 and CXCR2 in the diagnosis and prognosis of GC and their role in the pathogenesis of this malignancy.

In our study, we revealed that the concentrations of CXCL8 and CXCR2 were significantly higher in GC patients than in healthy controls, which may suggest that GC cells are involved in the synthesis of these proteins. Similar findings were observed by Baj-Krzyworzeka, who also indicated that CXCL8 levels in GC patients were significantly higher than in the control group [7], which was also confirmed by other authors [27,28]. Our previous investigations indicated the significant differences between serum levels of CXCL8 and/or CXCR2 in cancer patients and healthy individuals; however, these studies were performed on pancreatic [22,23], colorectal [24,25] as well as esophageal cancer [20,21] patients.

In the present investigation, there were no statistically significant differences between TNM stages of GC in the CXCL8 and CXCR2 serum levels. Wang et al. indicated that the elevated expression of CXCR2 was associated with tumor depth, nodal involvement and advanced TNM stage [13], while Li et al. found that higher CXCR2 expression in GC was associated with the presence of lymph node and distant metastases and advanced clinical stage [14]. Opposite results were presented by Chen et al., who demonstrated that a reduced expression of CXCR2 was correlated with larger tumor size and advanced TNM stage [8]. Moreover, Baj-Krzyworzeka et al. noticed that the plasma concentration of CXCL8 in GC patients also increased with the more advanced stage of the disease [7]. Moreover, in our previous studies, there were significant differences between CXCL8 concentrations and nodal involvement in patients with pancreatic cancer [22], while the serum level of this chemokine was statistically higher in subjects with distant metastases than without them in CRC patients [24]. The lack of statistical differences in serum CXCL8 and CXCR2 levels between the TNM stage and clinicopathological characteristics of the tumor might be a result of different types of samples and methods employed in presented investigations as well as an insufficient number of patients in specific subgroups included in our research.

Currently, using Spearman's rank correlation test results, we indicated that serum CXCL8 concentrations significantly correlated with its specific receptor CXCR2 and CRP and CA19-9 levels, whereas CXCR2 levels were associated with CRP concentrations. Present observations were in line with our previous studies concerning the measurement of these proteins in the sera of patients with gastrointestinal cancer. Preoperative serum CRC concentrations of CXCL8 were correlated with CEA and CRP levels as well as with the presence of distant metastases [24]. In addition, there was a significant correlation between serum CXCL8 concentration and CRP levels as well as with nodal involvement in pancreatic cancer patients [22]. Moreover, the serum CXCL8 level was indicated to be a significant risk factor of GC occurrence. Our previous study also revealed that this chemokine was the only significant predictor of pancreatic cancer risk [22].

In our study, we compare the diagnostic criteria for the measurement of the serum CXCL8 and its receptor levels with classical biochemical markers and markers of inflammation. The diagnostic sensitivity of CXCL8 was higher than for its receptor CXCR2 and CEA and comparable to CRP and CA19-9 levels. The highest diagnostic sensitivity and PPV were assessed for a combined analysis of CXCL8 with CA19-9. In addition, the diagnostic specificity of CXCL8 was higher when compared to CXCR2 and CA19-9 but lower than CEA and CRP. NPV values for CXCL8 and CXCR2 were higher in comparison to those of classical tumor markers. Moreover, AUC for CXCL8 was higher than for CXCR2 and classical tumor markers. Based on the literature database, there is no study comparing the diagnostic criteria for serum CXCL8 and CXCR2 levels with well-established tumor markers and CRP as GC biomarkers. In our previous findings, the percentages of elevated results for CXCL8 and CXCR2 were higher than for the classical tumor marker and the combined analysis of both proteins also increased the diagnostic sensitivity, which may suggest that it would be more useful to measure these proteins together than with a single marker in the diagnosis of colorectal cancer patients [24,25]. Similar to our present observations, the highest sensitivity was seen in the combined analysis of a protein tested with a classical tumor biomarker [20–25]. Our investigations revealed that the assessment of a single biomarker is not accurate enough to be used as a diagnostics tool because of its non-specific nature.

## 6. Conclusions

The findings presented in this paper suggest that based on diagnostic characteristics of all proteins tested, serum CXCL8 might be used as a potential biomarker in the diagnosis of GC patients, especially in a combined assessment with classical tumor markers. Our results indicate the role of the CXCL8/CXCR2 axis as well as the inflammation in the pathogenesis of this malignancy. Moreover, serum CXCL8 was a significant predictor of GC risk.

**Author Contributions:** E.P., M.L.-Z. and B.M. produced the idea of the study. E.P. and A.K.-P. contributed to research design and measurement of tested proteins. M.G. was involved in the sample collection. All authors analyzed the data. E.P. and B.M. coordinated project funding. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by the Medical University of Białystok, Poland.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Local Ethics Committee (R-I-002/65/2017) of the Medical University of Białystok (Poland).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

**Acknowledgments:** The presented project was supported by the Medical University of Białystok, Poland. B.M. has received consultation and/or lecture honoraria from Abbott, Wiener, Roche, Cormay and Biameditek; M.L.-Z. has received consultation and/or lecture honoraria from Roche.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Cancer Today. Available online: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf> (accessed on 26 August 2021).
2. Verbeke, H.; Geboes, K.; Van Damme, J.; Struyf, S. The role of CXC chemokines in the transition of chronic inflammation to esophageal and gastric cancer. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1825*, 117–129.
3. Lee, H.J.; Song, I.C.; Yun, H.J.; Jo, D.Y.; Kim, S. CXC chemokines and chemokine receptors in gastric cancer: From basic findings towards therapeutic targeting. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 1681–1693. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Fock, K.M. Review article: The epidemiology and prevention of gastric cancer. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2014**, *40*, 250–260. [[CrossRef](#)]
5. Paczek, S.; Łukaszewicz-Zajac, M.; Mroczko, B. Chemokines—What Is Their Role in Colorectal Cancer? *Cancer Control* **2020**, *27*, 1073274820903384. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Zajac, M.; Mroczko, B.; Szmitkowski, M. Chemokines and their receptors in esophageal cancer—The systematic review and future perspectives. *Tumor Biol.* **2015**, *36*, 5707–5714. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Baj-Krzyworzeka, M.; Weglarczyk, K.; Baran, J.; Szczepanik, A.; Szura, M.; Siedlar, M. Elevated level of some chemokines in plasma of gastric cancer patients. *Cent. Eur. J. Immunol.* **2016**, *41*, 358–362. [[CrossRef](#)]
8. Chen, X.; Chen, R. The role of CXCL chemokine family in the development and progression of gastric cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2020**, *13*, 484–492.
9. Ha, H.; Debnath, B.; Neamati, N. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases. *Theranostics* **2017**, *7*, 1543–1588. [[CrossRef](#)]
10. Jafarzadeh, A.; Nemati, M.; Jafarzadeh, S. The important role played by chemokines influence the clinical outcome of Helicobacter pylori infection. *Life Sci.* **2019**, *231*, 116688. [[CrossRef](#)]
11. Wang, J.P.; Hu, W.M.; Wang, K.S.; Yu, J.; Luo, B.H.; Wu, C.; Chen, Z.H.; Luo, G.Q.; Liu, Y.W.; Liu, Q.L.; et al. Expression of C-X-C chemokine receptor types 1/2 in patients with gastric carcinoma: Clinicopathological correlations and significance. *Oncol. Lett.* **2013**, *5*, 574–582. [[CrossRef](#)]
12. Yamamoto, Y.; Kuroda, K.; Sera, T. The clinicopathological significance of the CXCR2 ligands. CXCL1. CXCL2. CXCL3. CXCL5. CXCL6. CXCL7. and CXCL8 in gastric cancer. *Anticancer Res.* **2019**, *39*, 6645–6652. [[CrossRef](#)]
13. Wang, Z.; Liu, H.; Shen, Z. The prognostic value of CXC-chemokine receptor 2 (CXCR2) in gastric cancer patients. *BMC Cancer* **2015**, *15*, 766. [[CrossRef](#)]
14. Li, Z.; Wang, Y. Association of CXCR1 and 2 expressions with gastric cancer metastasis in ex vivo and tumor cell invasion in vitro. *Cytokine* **2014**, *69*, 6–13. [[CrossRef](#)]
15. Hamashima, C. Current issues and future perspectives of gastric cancer screening. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 13767–13774. [[CrossRef](#)]
16. Hu, P.J.; Chen, M.Y.; Wu, M.S. Clinical Evaluation of CA72-4 for Screening Gastric Cancer in A Healthy Population: A Multicenter Retrospective Study. *Cancers* **2019**, *11*, 733. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Łukaszewicz-Zajac, M.; Mroczko, B.; Szmitkowski, M. Gastric cancer—The role of matrix metalloproteinases in tumor progression. *Clin. Chim. Acta* **2011**, *412*, 1725–1730. [[CrossRef](#)]
18. Łukaszewicz-Zajac, M.; Szmitkowski, M.; Litman-Zawadzka, A.; Mroczko, B. Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitors in Comparison to Other Inflammatory Proteins in Gastric Cancer (GC). *Cancer Investig.* **2016**, *34*, 305–312. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

19. Łukaszewicz-Zajac, M.; Mroczko, B.; Kozłowski, M. Serum Concentrations of Chemokine CXCL12 and Its Specific Receptor CXCR4 in Patients with Esophageal Cancer. *Dis. Markers* **2016**, *2016*, 7963895. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Łukaszewicz-Zajac, M.; Kulczyńska-Przybik, A.; Muszyński, P.; Kozłowski, M.; Szmitkowski, M.; Mroczko, B. Serum concentrations of receptor for interleukin 8 in patients with esophageal cancer. *Pol. Arch. Med. Wewn.* **2016**, *126*, 854–861. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Łukaszewicz-Zajac, M.; Pączek, S.; Muszyński, P. Comparison between clinical significance of serum CXCL-8 and classical tumor markers in oesophageal cancer (OC) patients. *Clin. Exp. Med.* **2019**, *19*, 191–199. [[CrossRef](#)]
22. Litman-Zawadzka, A.; Łukaszewicz-Zajac, M.; Gryko, M. Serum chemokine CXCL8 as a better biomarker for diagnosis and prediction of pancreatic cancer than its specific receptor CXCR2. *C-reactive protein. and classic tumor markers CA19-9 and CEA. Pol. Arch. Med. Wewn.* **2018**, *128*, 524–531.
23. Litman-Zawadzka, A.; Łukaszewicz-Zajac, M.; Gryko, M.; Kulczyńska-Przybik, A.; Kędra, B.; Mroczko, B. Specific Receptors for the Chemokines CXCR2 and CXCR4 in Pancreatic. *Cancer Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 6193. [[CrossRef](#)]
24. Pączek, S.; Łukaszewicz-Zajac, M.; Gryko, M.; Mroczko, P.; Kulczyńska-Przybik, A.; Mroczko, B. CXCL-8 in Preoperative Colorectal Cancer Patients: Significance for Diagnosis and Cancer Progression. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2040. [[CrossRef](#)]
25. Pączek, S.; Łukaszewicz-Zajac, M.; Gryko, M.; Kulczyńska-Przybik, A.; Mroczko, B. The Clinical Utility of Serum CXCR-2 Assessment in Colorectal Cancer (CRC) Patients. *Anticancer Res.* **2021**, *41*, 1421–1428. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Olson, T.S.; Ley, K. Chemokines and chemokine receptors in leukocyte trafficking. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2002**, *283*, R7–R28. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Macrì, A.; Versaci, A.; Loddo, S. Serum levels of interleukin 1beta, interleukin 8 and tumour necrosis factor alpha as markers of gastric cancer. *Biomarkers* **2006**, *11*, 184–193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Haghazali, M.; Molaei, M.; Mashayekhi, R. Proinflammatory cytokines and thrombomodulin in patients with peptic ulcer disease and gastric cancer. infected with *Helicobacter pylori*. *Indian J. Pathol. Microbiol.* **2011**, *54*, 103–106.

## 10. Streszczenie

Chemokiny to substancje białkowe, które wpływają na migrację leukocytów poprzez receptory związane z białkami G. Cytokiny te są zaangażowane zarówno w procesy fizjologiczne, jak i patologiczne. Sugeruje się rolę ww. białek w patogenezie wielu nowotworów, w tym raka żołądka.

Rak żołądka jest piątym co do częstości występowania nowotworem złośliwym oraz trzecią co do częstości przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie. Późna diagnostyka chorych na raka żołądka oraz krótki czas przeżycia pacjentów są przyczynami poszukiwania nowych biomarkerów, które umożliwiłyby wcześniejsze wykrycie raka oraz włączenie odpowiedniego leczenia. Sugeruje się znaczenie chemokiny CXCL8 i jej specyficznego receptora CXCR2 w rozwoju raka żołądka. W tkankach raka żołądka wykazano wzmożoną ekspresję CXCR2, która korelowała z obecnością przerzutów odległych. Natomiast dotychczas nie porównano znaczenia CXCL8 i jej receptora CXCR2 w diagnostyce chorych na raka żołądka ze stężeniami klasycznych markerów nowotworowych, tj. CEA i CA 19-9, a także markerem stanu zapalnego – CRP.

W związku z tym celem tej pracy było:

1. Oznaczenie stężeń chemokiny CXCL8 i jej receptora CXCR2 w surowicy chorych na raka żołądka oraz osób zdrowych z grupy kontrolnej, a następnie porównanie stężeń ww. białek pomiędzy tymi grupami.
2. Określenie zależności stężeń CXCL8 i jej receptora CXCR2 od stadium zaawansowania nowotworu oraz cech kliniczno-patologicznych raka żołądka.
3. Porównanie stężeń CXCL8 i CXCR2 ze stężeniami klasycznych markerów nowotworowych raka żołądka – CA 19-9 i CEA, a także stężeniami markera stanu zapalnego – CRP.
4. Przeprowadzenie analizy regresji logistycznej w celu ustalenia zależności między stężeniami markerów CXCL8, CXCR2, CA 19-9, CEA, CRP a prawdopodobieństwem wystąpienia raka żołądka.
5. Określenie wskaźników diagnostycznych CXCL8 i CXCR2, tj. czułości i swoistości diagnostycznej, wartości predykcyjnej wyniku dodatniego i wyniku ujemnego, mocy diagnostycznej w oparciu o pole powierzchni pod krzywą ROC.

Grupę badaną stanowili chorzy na raka żołądka, a grupa kontrolna składała się ze zdrowych ochotników. Materiałem do badań była surowica krwi żyłnej pobrana przed leczeniem. Stężenia CXCL8 i CXCR2 oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA, stężenie CEA i CA 19-9 metodą chemiluminescencyjną, zaś CRP metodą turbidymetryczną. Różnice stężeń oznaczanych białek poddano analizie statystycznej.

Wykazano, że stężenia CXCL8 i CXCR2 były znamienne wyższe u pacjentów z rakiem żołądka niż w grupie kontrolnej osób zdrowych, podobnie jak CA 19-9 i CRP. Stężenia CXCL8 znamienne korelowały ze stężeniami receptora CXCR2, CA 19-9 i CRP, zaś stężenia CXCR2 ze stężeniami CRP. Czułość diagnostyczna oznaczeń stężeń CXCL8 była większa niż CXCR2 i CEA oraz porównywalna do CRP i CA 19-9, przy czym łączna analiza CXCL8 i CXCR2 z klasycznym markerem nowotworowym CA 19-9 zwiększała czułość diagnostyczną. Stężenia CXCL8 charakteryzowały się największą mocą diagnostyczną w rozpoznawaniu raka żołądka ocenioną na podstawie pola powierzchni pod krzywą ROC wśród wszystkich analizowanych białek. Podwyższone stężenie CXCL8 jest istotnym, niezależnym czynnikiem wystąpienia raka żołądka.

Przeprowadzone badania sugerują udział chemokiny CXCL8 i jej specyficznego receptora w rozwoju raka żołądka, a także przydatność oznaczania stężeń tej chemokiny w diagnostyce raka żołądka. Wyższa moc diagnostyczna oznaczeń stężeń CXCL8 w porównaniu do klasycznych markerów nowotworowych wskazuje na znaczenie tej chemokiny jako kandydata na marker nowotworowy raka żołądka, szczególnie przy łącznej analizie z CA 19-9.

## 11. Summary

Chemokines are low molecular chemotactic proteins, binding to G protein-coupled receptors. These cytokines play a significant role not only in numerous physiological processes, but also in many pathological conditions. It has been suggested that chemokines and their receptors are involved in the pathogenesis of several malignancies, including gastric cancer (GC).

Gastric cancer is the fifth most common cancer and the third most common cause of death among malignant tumors in the world. Because of a late diagnosis of GC patients and their short survival after the diagnosis, the earlier detection of GC and initiation of appropriate treatment are important. The significance of CXCL8 and its specific receptor CXCR2 in the development of GC has been suggested. Increased expression of CXCR2 in GC tissues correlated with the presence of distant metastases. The significance of CXCL8 and its receptor CXCR2 in GC has not yet been compared with the classical tumor markers i.e., CEA and CA 19-9 and a marker of inflammation – CRP.

The aims of this study were:

1. The assessment of CXCL8 and CXCR2 concentrations in the blood of GC patients and then the comparison of these concentrations with the control group.
2. The analysis of association between serum CXCL8 and CXCR2 concentrations and tumor stage as well as clinico-pathological features of GC.
3. The comparison of serum CXCL8 and CXCR2 levels with CEA and CA 19-9 and with CRP concentrations in GC patients.
4. The assessment of a logistic regression analysis to determine the relationship between the concentrations of CXCL8, CXCR2, CA 19-9, CEA, CRP markers and the probability of GC development.
5. The evaluation of diagnostic criteria, such as diagnostic sensitivity and specificity, positive and negative predictive values, as well as the area under the ROC curve for CXCL8 and CXCR2.

The material for the study was venous blood serum collected before treatment. CXCL8 and CXCR2 concentrations were determined by ELISA immunoenzymatic method, CEA and CA 19-9 concentrations by chemiluminescence method, and CRP by turbidimetric method. Differences in concentrations of the determined proteins were subjected to statistical analysis.

Serum CXCL8 and CXCR2 levels were significantly higher in GC patients than in the healthy controls, similarly to CA 19-9 and CRP. CXCL8 concentrations correlated significantly with CXCR2, CA 19-9 and CRP concentrations, while concentrations of CXCR2 correlated with CRP concentrations. The diagnostic sensitivity of CXCL8 was higher for CXCL8 than for CXCR2 and CEA and comparable to CRP and CA 19-9. The combined measurements of CXCL8 with the classic tumor marker CA 19-9 and CXCR2 with CA 19-9 increased the diagnostic sensitivity.

CXCL8 concentrations were found to have the highest diagnostic significance in the diagnosis of GC basing on the ROC area analysis among all analyzed proteins. Elevated CXCL8 concentration seems to be a significant, independent factor of GC.

Our studies suggest the involvement of CXCL8 chemokine and its specific receptor in the development of GC, as well as in GC progression. In comparison with classical tumor markers, higher diagnostic significance of CXCL8 concentrations reveals this chemokine as a solid candidate for a GC marker, especially combined with CA 19-9.



## 12. Piśmiennictwo

1. Baj-Krzyworzeka M, Węglarczyk K, Baran J, Szczepanik A, Szura M, Siedlar M. Elevated level of some chemokines in plasma of gastric cancer patients. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(4):358-362. doi:10.5114/ceji.2016.65133
2. Balkwill FR. The chemokine system and cancer. *J Pathol.* 2012;226(2):148-157. doi:10.1002/path.3029
3. Bosman FT World Health Organization International Agency for Research on Cancer. *Who Classification of Tumours of the Digestive System.* 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2010.
4. Cichon P, Jastrzębski T. Rak Żołądka. *Onkonet.* Dostęp: 8 grudnia 2022. [https://www.onkonet.pl/dp\\_npp\\_rakzoladka](https://www.onkonet.pl/dp_npp_rakzoladka)
5. El Gharib K, Khoury M, Kourie HR. HER2 in gastric adenocarcinoma: where do we stand today?. *Per Med.* 2022;19(1):67-78. doi:10.2217/pme-2021-0004
6. Griffith JW, Sokol CL, Luster AD. Chemokines and Chemokine Receptors: Positioning Cells for Host Defense and Immunity. *Annu Rev Immunol.* 2014;32(1):659-702. doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120145
7. Ha H, Debnath B, Neamati N. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases. *Theranostics.* 2017;7(6):1543-1588. doi:10.7150/thno.15625
8. Henc I, Bryl E. Chemokiny jako ważne mediatory stanu zapalnego. *Forum Medycyny Rodzinnej.* 2013;7(5):251–262. [https://journals.viamedica.pl/forum\\_medycyny\\_rodzinnej/article/view/36352](https://journals.viamedica.pl/forum_medycyny_rodzinnej/article/view/36352)
9. Homey B, Meller S. Chemokines and other mediators as therapeutic targets in psoriasis vulgaris. *Clin Dermatol.* 2008;26(5):539-545. doi:10.1016/j.clindermatol.2007.11.003
10. Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *J Gastrointest Oncol.* 2012;3(3):251-261. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2012.021
11. Hu PJ, Chen MY, Wu MS, et al. Clinical Evaluation of CA72-4 for Screening Gastric Cancer in A Healthy Population: A Multicenter Retrospective Study. *Cancers (Basel).* 2019;11(5):733. doi:10.3390/cancers11050733
12. International Agency for Research on Cancer. *World Fact Sheets. Global Cancer Observatory.* Opublikowano: marzec 2021. Dostęp: 8 grudnia 2022.



<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>

13. Jo JC, Ryu MH, Koo DH, et al. Serum CA 19-9 as a prognostic factor in patients with metastatic gastric cancer. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2013;9(4):324-330. doi:10.1111/ajco.12019
14. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014;23(5):700-713. doi:10.1158/1055-9965.EPI-13-1057
15. Krajowy Rejestr Nowotworów. Nowotwór Żołądka | Czynniki ryzyka. Krajowy Rejestr Nowotworów. Opublikowano: 24 września 2021. Dostęp: 8 grudnia 2022. <https://onkologia.org.pl/pl/nowotwor-zoladka-czynniki-ryzyka>
16. Lee HJ, Song IC, Yun HJ, Jo DY, Kim S. CXC chemokines and chemokine receptors in gastric cancer: from basic findings towards therapeutic targeting. *World J Gastroenterol*. 2014;20(7):1681-1693. doi:10.3748/wjg.v20.i7.1681
17. Litman-Zawadzka A, Łukaszewicz-Zajac M, Gryko M, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B. Serum chemokine CXCL8 as a better biomarker for diagnosis and prediction of pancreatic cancer than its specific receptor CXCR2, C-reactive protein, and classic tumor markers CA 19-9 and CEA. *Pol Arch Intern Med*. 2018;128(9):524-531. doi:10.20452/pamw.4307
18. Liu Q, Li A, Tian Y, et al. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016;31:61-71. doi:10.1016/j.cytogfr.2016.08.002
19. Luker KE, Luker GD. Functions of CXCL12 and CXCR4 in breast cancer. *Cancer Lett*. 2006;238(1):30-41. doi:10.1016/j.canlet.2005.06.021
20. de Martel C, Forman D, Plummer M. Gastric cancer: epidemiology and risk factors. *Gastroenterol Clin North Am*. 2013;42(2):219-240. doi:10.1016/j.gtc.2013.01.003
21. McManus C, Berman JW, Brett FM, Staunton H, Farrell M, Brosnan CF. MCP-1, MCP-2 and MCP-3 expression in multiple sclerosis lesions: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *J Neuroimmunol*. 1998;86(1):20-29. doi:10.1016/s0165-5728(98)00002-2
22. Moore BB, Kunkel SL. Attracting Attention: Discovery of IL-8/CXCL8 and the Birth of the Chemokine Field. *J Immunol*. 2019;202(1):3-4. doi:10.4049/jimmunol.1801485
23. Morgan DR, Torres J. The stratification of gastric cancer risk in Latin America. *Rev Gastroenterol Mex*. 2013;78(3):125-126. doi:10.1016/j.rgmx.2013.08.001

24. Nocuń A, Wilczyński M, Wroński J, Chrapko B. Usefulness of <sup>99m</sup>Tc-ECD brain SPECT with voxel-based analysis in evaluation of perfusion changes early after carotid endarterectomy. *Med Sci Monit.* 2011;17(5):CR297-CR303. doi:10.12659/msm.881771
25. Pączek S, Łukaszewicz-Zajac M, Gryko M, Mroczko P, Kulczyńska-Przybik A, Mroczko B. CXCL-8 in Preoperative Colorectal Cancer Patients: Significance for Diagnosis and Cancer Progression. *Int J Mol Sci.* 2020;21(6):2040. doi:10.3390/ijms21062040
26. Potemski P, Polkowski W, et al. Nowotwory układu pokarmowego. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych. Opublikowano: 2 grudnia 2015. Dostęp: 8 grudnia 2022.  
[http://www.onkologia.zalecenia.med.pl/pdf/zalecenia\\_PTOK\\_tom1\\_04\\_Nowotwory\\_ukladu\\_pokarmowego\\_20151202.pdf](http://www.onkologia.zalecenia.med.pl/pdf/zalecenia_PTOK_tom1_04_Nowotwory_ukladu_pokarmowego_20151202.pdf)
27. Ransohoff RM. Chemokines and chemokine receptors: standing at the crossroads of immunobiology and neurobiology. *Immunity.* 2009;31(5):711-721. doi:10.1016/j.immuni.2009.09.010
28. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol.* 2019;14(1):26-38. doi:10.5114/pg.2018.80001
29. Rubie C, Frick VO, Pfeil S, et al. Correlation of IL-8 with induction, progression and metastatic potential of colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2007;13(37):4996-5002. doi:10.3748/wjg.v13.i37.4996
30. Scarà S, Bottoni P, Scatena R. CA 19-9: Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol.* 2015;867:247-260. doi:10.1007/978-94-017-7215-0\_15
31. Segerer S, Banas B, Wörnle M, et al. CXCR3 is involved in tubulointerstitial injury in human glomerulonephritis. *Am J Pathol.* 2004;164(2):635-649. doi:10.1016/S0002-9440(10)63152-5
32. Shrivastava MS, Hussain Z, Giricz O, et al. Targeting chemokine pathways in esophageal adenocarcinoma. *Cell Cycle.* 2014;13(21):3320-3327. doi:10.4161/15384101.2014.968426
33. Simpson J, Rezaie P, Newcombe J, Cuzner ML, Male D, Woodroffe MN. Expression of the beta-chemokine receptors CCR2, CCR3 and CCR5 in multiple sclerosis central nervous system tissue. *J Neuroimmunol.* 2000;108(1-2):192-200. doi:10.1016/s0165-5728(00)00274-5

34. Soborczyk A, Deptała A. Markery nowotworowe w praktyce klinicznej. *Choroby Serca i Naczyń*. 2007;4(4):184-189.  
[https://journals.viamedica.pl/choroby\\_serca\\_i\\_naczyn/article/view/12106](https://journals.viamedica.pl/choroby_serca_i_naczyn/article/view/12106)
35. Verbeke H, Geboes K, Van Damme J, Struyf S. The role of CXC chemokines in the transition of chronic inflammation to esophageal and gastric cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1825(1):117-129. doi:10.1016/j.bbcan.2011.10.008
36. Yoshimoto K, Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Yokoyama H. CD68 and MCP-1/CCR2 expression of initial biopsies reflect the outcomes of membranous nephropathy. *Nephron Clin Pract*. 2004;98(1):c25-c34. doi:10.1159/000079924
37. Zlotnik A, Burkhardt AM, Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(9):597-606. doi:10.1038/nri3049

**13. Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu**

„Serum CXCL8 and Its Specific Receptor (CXCR2) in Gastric Cancer” autorów: Elżbieta Pawluczuk, Marta Łukaszewicz-Zajac, Mariusz Gryko, Agnieszka Kulczyńska-Przybik, Barbara Mroczko, opublikowanej w *Cancers*, 2021; 13(20): 5186

| Imię i nazwisko współautora             | Charakter udziału                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Procentowy wkład |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| doktorantka - lek. Elżbieta Pawluczuk   | opracowanie koncepcji pracy, zebranie piśmiennictwa, zabezpieczenie i przygotowanie próbek krwi do analizy, udział w oznaczeniach wybranych parametrów, udział w interpretacji uzyskanych wyników, opracowanie i dyskusja nad wynikami, opracowanie wniosków, napisanie pracy i przygotowanie pracy do druku | 55%              |
| dr hab. Marta Łukaszewicz-Zajac         | analiza i dyskusja danych literaturowych                                                                                                                                                                                                                                                                     | 5%               |
| dr hab. Mariusz Gryko                   | zebranie materiału do badań                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 5%               |
| dr n. med. Agnieszka Kulczyńska-Przybik | analiza i dyskusja wyników                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 10%              |
| prof. dr hab. n. med. Barbara Mroczko   | ustalenie koncepcji badania, analiza i dyskusja wyników, ocena merytoryczna pracy                                                                                                                                                                                                                            | 25%              |

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższej publikacji w pracy doktorskiej lek. Elżbiety Pawluczuk.

Podpis

*Elżbieta Pawluczuk*

**Dr hab. Marta Łukaszewicz-Zajac**

Białystok, dn. 27.04.2023

.....  
*imię i nazwisko współautora*

.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Biochemicznej

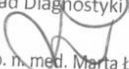
.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „**Serum CXCL8 and its specific receptor (CXCR2) in gastric cancer**” autorów Pawluczuk Elżbieta, Łukaszewicz-Zajac Marta, Gryko Mariusz, Kulczyńska-Przybik Agnieszka, Mroczo Barbara, opublikowanej w Cancers, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w raku żołądka”, wynoszący 5% polegał na analizie i dyskusji danych literaturowych.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez **Elżbietę Pawluczuk** publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

ADJUNKT  
Zakład Diagnostyki Biochemicznej  
  
Dr hab. n. med. Marta Łukaszewicz-Zajac

**Dr hab. Mariusz Gryko**

Białystok, dn. 27.04.2023

.....  
*imię i nazwisko współautora*

.....  
*miejsowość, data*

Zakład Pielęgniarstwa Chirurgicznego;  
II Klinika Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „**Serum CXCL8 and its specific receptor (CXCR2) in gastric cancer**” autorów Pawluczuk Elżbieta, Łukaszewicz-Zajac Marta, Gryko Mariusz, Kulczyńska-Przybik Agnieszka, Mroczko Barbara, opublikowanej w Cancers, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w raku żołądka”, wynoszący 5% polegał na zebraniu materiału do badań.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez **Elżbietę Pawluczuk** publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*dr hab. n. med. Mariusz Gryko*  
specjalista chirurgii ogólnej  
onkologicznej  
4471308

Dr n. med. Agnieszka Kulczyńska-Przybik

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, dn. 27.04.2023

.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Chorób Neurozwyrodnieniowych

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

ul. J. Kilińskiego 1

15-089 Białystok

#### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „**Serum CXCL8 and its specific receptor (CXCR2) in gastric cancer**” autorów Pawluczuk Elżbieta, Łukaszewicz-Zajac Marta, Gryko Mariusz, Kulczyńska-Przybik Agnieszka, Mroczko Barbara, opublikowanej w *Cancers*, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w raku żołądka”, wynoszący 10% polegał na analizie i dyskusji wyników.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez **Elżbietę Pawluczuk** publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*Agnieszka Kulczyńska-Przybik*

Prof. dr hab. Barbara Mroczko

Białystok, dn. 27.04.2023

.....  
imię i nazwisko współautora

.....  
miejscowość, data

Zakład Diagnostyki Chorób Neurozwyrodnieniowych;  
Zakład Diagnostyki Biochemicznej

.....  
nazwa jednostki

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „**Serum CXCL8 and its specific receptor (CXCR2) in gastric cancer**” autorów Pawluczuk Elżbieta, Łukaszewicz-Zając Marta, Gryko Mariusz, Kulczyńska-Przybik Agnieszka, Mroczko Barbara, opublikowanej w Cancers, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej „Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w raku żołądka”, wynoszący 25% polegał na ustaleniu koncepcji badania, analizie i dyskusji wyników, ocenie merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez **Elżbietę Pawluczuk** publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

KIEROWNIK  
Zakładu Diagnostyki  
Chorób Neurozwyrodnieniowych  
prof. dr hab. med. Barbara Mroczko



„The role of chemokines in the development of gastric cancer - diagnostic and therapeutic implications” autorów: Elżbieta Pawluczuk, Marta Łukaszewicz-Zajac, Barbara Mroczko, opublikowanej w *International Journal of Molecular Sciences*, 2020; 21(22): 8456

| Imię i nazwisko współautora           | Charakter udziału                                                                                   | Procentowy wkład |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| doktorantka - lek. Elżbieta Pawluczuk | opracowanie koncepcji pracy, zebranie piśmiennictwa, napisanie pracy i przygotowanie pracy do druku | 55%              |
| dr hab. Marta Łukaszewicz-Zajac       | analiza i dyskusja danych literaturowych                                                            | 15%              |
| prof. dr hab. n. med. Barbara Mroczko | ustalenie koncepcji pracy, ocena merytoryczna pracy                                                 | 30%              |

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższej publikacji w pracy doktorskiej lek. Elżbiety Pawluczuk.

Podpis

*Elżbieta Pawluczuk*

**Dr hab. Marta Łukaszewicz-Zajac**

Białystok, dn. 27.04.2023

.....  
*imię i nazwisko współautora*

.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Biochemicznej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „The role of chemokines in the development of gastric cancer – diagnostic and therapeutic implications” autorów: Pawluczuk Elżbieta, Łukaszewicz-Zajac Marta, Mroczko Barbara, opublikowanej w International Journal of Molecular Sciences, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej “Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w raku żołądka”, wynoszący 15% polegał na analizie i dyskusji danych literaturowych.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez **Elżbietę Pawluczuk** publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

ADIUNKT  
Zakład Diagnostyki Biochemicznej  
  
Dr hab. n. med. Marta Łukaszewicz-Zajac

**Prof. dr hab. Barbara Mroczko**

Białystok, dn. 27.04.2023

.....  
*imię i nazwisko współautora*

.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Chorób Neurozwyrodnieniowych;  
Zakład Diagnostyki Biochemicznej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji: „The role of chemokines in the development of gastric cancer – diagnostic and therapeutic implications” autorów: Pawluczuk Elżbieta, Łukaszewicz-Zajac Marta, Mroczko Barbara, opublikowanej w International Journal of Molecular Sciences, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej “Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w raku żołądka”, wynoszący 30% polegał na ustaleniu koncepcji pracy, ocenie merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez **Elżbietę Pawluczuk** publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

KIEROWNIK  
Zakładu Diagnostyki  
Chorób Neurozwyrodnieniowych  
*prof. dr hab. med. Barbara Mroczko*

#### 14. Zgoda Komisji Bioetycznej

**KOMISJA BIOETYCZNA**  
**UNIwersYTETU MEDYCZNEGO w BIAŁYMSTOKU**  
ul. Jana Kilińskiego 1  
15-089 Białystok  
tel. (085) 748 54 07, fax. (085) 748 55 08  
[prorektorkl@umb.edu.pl](mailto:prorektorkl@umb.edu.pl)

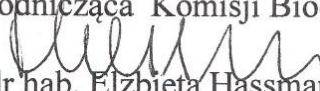
---

Białystok, 23-02-2017

Uchwała nr: R-I-002/65/2017

Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, po zapoznaniu się z projektem badania zgodnie z zasadami GCP/ Guidelines for Good Clinical Practice /- **w y r a ż a z g o d ę** na prowadzenie tematu badawczego: „Znaczenie i przydatność diagnostyczna wybranych białek specyficznych (tj. m.in. CXCL8, CXCR2, CXCL12, CXCR4, YKL-40) u pacjentów z nowotworami przewodu pokarmowego” przez prof. dr hab. Barbarę Mroczo wraz z zespołem badawczym z UMB.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej UMB

  
prof. dr hab. Elzbieta Hassman-Poznańska

**KOMISJA BIOETYCZNA PRZY  
UNIwersytecie Medycznym w Białymstoku**

ul. Jana Kilińskiego 1  
15-089 Białystok  
tel. 85 748 54 07, fax 85 748 55 08  
komisjabioetyczna@umb.edu.pl

---

Białystok, 17.12.2020 r.

Dot. zgody KB: **R-I-002/65/2017**

Sz. P.  
prof. dr hab. Barbara Mroczko

Komisja Bioetyczna przy UMB na posiedzeniu w dniu 17.12.2020 r. zapoznała się z wnioskami złożonymi do tematu badawczego pt.: „Znaczenie i przydatność diagnostyczna wybranych białek specyficznych (tj. m.in. CXCL8, CXCR2, CXCL12, CXCR4, YKL-40) u pacjentów z nowotworami przewodu pokarmowego” i **wyraża zgodę** na dołączenie do zespołu badawczego:

- lek. Elżbiety Pawluczuk (doktorantki Szkoły Doktorskiej),
- Pauliny Raciborskiej, Aleksandry Weroniki Mołdawskiej, Katarzyny Litwiak (studentek V roku Analityki Medycznej),
- Kingi Białousow (studentki IV roku Analityki Medycznej).

Z poważaniem

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej przy UMB

prof. dr hab. Otylia Kowal-Bielecka

**Za zgodność z oryginałem**

**Data** 27.04.2023

pink

Dział ds. Klinicznych i Szkolenia Zawodowego  
ul. Jana Kilińskiego 1, 15-089 Białystok  
e-mail: prrektorkl@umb.edu.pl  
tel. 85 748 54 06, fax 85 748 55 08